

“Um in einem Züchtungsprozess einen Organismus zu lenken, müssen in erster Linie Kenntnisse des Objektes, Kenntnisse des Art- und Gattungspotentials und Kenntnisse über die Amplitude morphologischer, geschlechtlicher, physiologischer, qualitativer und quantitativer Unterschiede im Bereich der Arten vorhanden sein. Man muss wissen, wo sich das Potential der Art befindet und wie die genetischen Wechselbeziehungen im Bereich der gegebenen Gruppe sind.”

N. I. Vavilov



“Alles Wissen und alle Vermehrung unseres Wissens endet nicht mit einem Schlusspunkt, sondern mit Fragezeichen. Ein Plus an Wissen bedeutet ein Plus an Fragestellungen, und jede von ihnen wird immer wieder von neuen Fragestellungen abgelöst. ”

H. Hesse

**Quantitative Analyse der Beteiligung genetisch
verschiedener internaler Sprossscheitelschichten (L2, L3) an
der Bildung des Blattmesophylls - ein Beitrag zum
Konkurrenzverhalten genetisch verschiedener Gewebe**

DISSERTATION

**zur Erlangung des akademischen Grades
doctor rerum agriculturalarum
(Dr. rer. agr.)**

**eingereicht an der
Landwirtschaftlich-Gärtnerischen Fakultät
der Humboldt-Universität zu Berlin**

von

Diplom-Agrarwissenschaftlingieur, Master of Science Octave William Ademola Monteiro
geboren am 19. November 1968 in Cotonou (Benin)

Präsident der Humboldt-Universität zu Berlin
Prof. Dr. J. Mlynek

Dekan der Landwirtschaftlich-Gärtnerischen Fakultät
Prof. Dr. Uwe Jens Nagel

Gutachter:

1. Prof. Dr. sc. rer. nat. F. Pohlheim
2. Prof. Dr. K. Klopfer
3. PD Dr. sc. nat. K. Zoglauer

Tag der mündlichen Prüfung: 30.07.2002

Bibliographische Beschreibung

OCTAVE WILLIAM MONTEIRO

Quantitative Analyse der Beteiligung genetisch verschiedener internaler Sprossscheitelschichten (L2, L3) an der Bildung des Blattmesophylls - ein Beitrag zum Konkurrenzverhalten genetisch verschiedener Gewebe. (2002).

116 Seiten, 62 Abbildungen, 27 Tabellen, 152 Literaturangaben

Berlin, Humboldt-Universität zu Berlin, Landwirtschaftlich-Gärtnerische Fakultät. Diss. A

Schlagworte: Sprossscheitel, Blattmesophyllbildung, Gewebekonkurrenz, Chimäre, Adventivsprossbildung

Abstract

Die vorliegende Arbeit liefert neue Kenntnisse über das Konkurrenzverhalten der Sprossscheitelschichten bei der Blattmesophyllbildung und trägt dadurch zum Verständnis der Entwicklungsgeschichte höherer Pflanzen bei. Weißbunte Pflanzen von *Peperomia serpens* SW. LOUD, *Sedum rubrotinctum* R. T. CLAUSEN, *Pedilanthus tithymaloides* (L.) POIT. und *Plectranthus coleoides* BENTH wurden verwendet, um den Bau des Sprossscheitels und die chimärische Natur des Laubblattes zu analysieren. Durch die Untersuchungen zum Bau des Sprossscheitels und zur Blattanatomie wurden die Anzahl initialer Sprossscheitelschichten und die periklinalchimärische Natur der untersuchten Pflanzen bestätigt.

Mit Hilfe von Mittelwertvergleichen der Mächtigkeit L2- und L3-bürtiger Mesophyllgewebe wurde die Beteiligung genetisch verschiedener internaler Sprossscheitelschichten an der Bildung des Blattmesophylls bei *Sedum rubrotinctum*, *Pedilanthus tithymaloides* und *Peperomia serpens* erfasst. Die Existenz histogenetisch grüner L2- oder L3-bürtiger Gewebe verursacht eine Zunahme der Blattquerschnittfläche (*Sedum rubrotinctum*) und eine Vergrößerung der Blattmesophyllhöhe (*Peperomia serpens* und *Pedilanthus tithymaloides*).

Es wurden Regenerationsversuche an Blattstecklingen der Periklinalchimäre von *Peperomia serpens* und *Sedum rubrotinctum* durchgeführt. Durch In-vivo-Provozierung von Adventivsprossen an Blattstücken und achselknospenfreien Sprossen gelang es, die zwei untersuchten heterohistischen Musterpflanzen von *Peperomia serpens* („GGW“ und „GWG“) in grüne und weiße Nachkommen zu zerlegen. An Blattstecklingen bildeten sich in der Mehrzahl L3-bürtige Regenerate (ca. 75 %). Eine Beteiligung der L2-bürtigen Gewebe bei der Regeneration war an den Blattrandexplantaten zu beobachten. Das L1-bürtige Hypoderm konnte nur in der In-vitro-Blattregeneration deutlich seine Fähigkeit zur Adventivsprossbildung zeigen. Die Blattregenerationsergebnisse bei *Peperomia serpens* demonstrieren deutlich, dass sich alle drei Sprossscheitelschichten (L1, L2, L3) an der Blattmesophyllbildung beteiligen können.

An Blattstecklingen von Periklinalchimären bei *Sedum rubrotinctum* bildeten sich grüne, weiße und neue chimärische Adventivsprosse. Aus den Regenerationsergebnissen lässt sich die entscheidende Rolle der L2-bürtigen Gewebe bei der Adventivsprossbildung ablesen. Die Regenerationsergebnisse sprechen dafür, dass die Bildung der Adventivsprosse durch die Beteiligung der L2- und L3-bürtigen Gewebe hervorgerufen wurde und die L1-bürtigen Gewebe an der Adventivsprossbildung nicht beteiligt sein konnten.

Demzufolge sind tiefer liegende Gewebe (L2- und L3-bürtige) des Laubblattes beider Arten bei der Bildung der Adventivsprosse entscheidender als die L1-bürtige Epidermis. Das Ausmaß der Beteiligung an der Adventivsprossbildung bei *Peperomia serpens* und *Sedum rubrotinctum* wird nicht von der genetischen Herkunft (weiß oder grün) des L2- bzw. L3-bürtigen Gewebes gesteuert, sondern durch die Lage und damit durch die Abstammung der Gewebe aus der entsprechenden Sprossscheitelschicht bestimmt.

Die abschließenden Untersuchungen an *Plectranthus coleoides*, dessen Chlorophyll- und Ploidiechimären quantitativ analysiert wurden, verdeutlichen die Erkenntnisse über die Beteiligung der Sprossscheitelschichten an der Bildung des Blattmesophylls. Es wurde deutlich, dass die Gewebekonkurrenz im Beisein einer doppelten Markierung nicht lagebedingt sein kann, sondern aufgrund verschiedener Ploidiestufen stattfindet.

Bibliographic description

OCTAVE WILLIAM MONTEIRO

Quantitative Analysis of Participation of Genetically Different Internal Shoot Apical Meristem Layers (L2, L3) in Foliar Mesophyll Formation - a Contribution to the Competitive Reaction of Genetically Different Plant Tissues. (2002).

116 Pages, 62 Figures, 27 Tables, 152 References

Berlin, Humboldt-University Berlin, Faculty of Agriculture and Horticulture. Ph. D.

Keywords: Shoot apical meristem, Mesophyll formation, Tissue competition, Chimera, Adventitious shoot formation

Abstract

The studies presented in this thesis provide new insights into the competitive reaction of the shoot apical layers during the foliar mesophyll formation and thus contribute to understanding of plant development. The variegated plants of *Peperomia serpens* SW. LOUD, *Sedum rubrotinctum* R. T. CLAUSEN, *Pedilanthus tithymaloides* (L.) POIT. and *Plectranthus coleoides* BENTH were used to analyse the cellular organisation of shoot apex and the histogenetic constitution of the leaf. Shoot apex and leaves structural analyses confirm the number of initial shoot apical layers and the periclinal chimeric nature of investigated plants.

Quantitative analysis of foliar mesophyll of *Sedum rubrotinctum*, *Peperomia serpens* and *Pedilanthus tithymaloides* have been used to deduce patterns of meristem layers intercellular interaction during mesophyll formation. The expression of the histogenetic green meristem layer (L2 or L3) causes a increase of “mesophyll area” (*Sedum rubrotinctum*) and a enlargement of “mesophyll height” (*Peperomia serpens* and *Pedilanthus tithymaloides*) in leaves.

Four periclinal chimeric forms of *Peperomia serpens* (‘GGW’ and ‘GWG’) and of *Sedum rubrotinctum* (‘GGW’ and ‘GWG’), each of which possesses normal green cell layers but a genetically different chlorophyll-deficient cell layer, were utilized to study the effect of genotype on the ability of the cell layers of *in vivo* and *in vitro* leaf cutting to regenerate adventitious shoots and to analyse the competition between apical layers and their derivatives in the plant ontogeny. Among the *in vivo* adventitious shoots of the leaf cuttings and leaf of *Peperomia serpens*, shoots were green, white and variegated. The L3-derived cell layer is alone responsible for the formation of ca. 75 % of adventitious shoots. The relative significant contribution of L2-derived cell layers to mesophyll formation increases in margin of leaf. The L1-derived hypoderm in foliar mesophyll of *Peperomia serpens* were apparently incapable of shoot regeneration of *in vivo* leaf cutting, yet in both periclinal forms clearly produced green shoots *in vitro*. Results demonstrate that all initial apical meristem layers in *Peperomia serpens* can contribute with different ability to foliar mesophyll formation.

Adventitious shoots were *in vivo* induced on leaf of periclinal chimeric plants of *Sedum rubrotinctum*. Plants derived from leaf culture were three types: green, white and variegated. Among the adventitious shoots of green- and white-margined leaf of *Sedum rubrotinctum*, most adventitious shoots (ca. 90 %) were L2-derived, a few were L3-derived. Results demonstrate that the L1 derivatives can not contribute to foliar mesophyll formation.

According to these results the internal tissues (L2- and L3-derived cell layers) of leaf are more competitive than the epidermis. The lineage of adventitious shoot is not controlled by the genetic origin of L2- and L3-derived tissues, but by the position of these derived tissues according to the shoot apical meristem layer.

The last experiments on *Plectranthus coleoides* which have combined quantitative analysis of variegated-leaf chimeras with quantitative analysis of cytochimeras have begun to shed more light on the contribution of apical meristem layers to foliar mesophyll formation. It has revealed how the ploidy degree of apical layers derivatives in a cytochimera control leaf cell fate more than their position in the meristem.

Abkürzungen

	<u>Deutsch</u>	<u>English</u>
DDD	Diploid-Diploid-Diploid	Diploid-Diploid-Diploid
DDT	Diploid-Diploid-Tetraploid	Diploid-Diploid-Tetraploid
DPX	Dimeres <i>para</i> -Xylen	Dimeric <i>para</i> -Xylene
EDV	Elektronische Datenverarbeitung	Electronic Data Processing
GGG	Grün-Grün-Grün	Green-Green-Green
GGW	Grün-Grün-Weiß	Green-Green-White
GGWG	Grün-Grün-Weiß-Grün	Green-Green-White-Green
GWG	Grün-Weiß-Grün	Green-White-Green
GWGG	Grün-Weiß-Grün-Grün	Green-White-Green-Green
GWW	Grün-Weiß-Weiß	Green-White-White
IAA	Indolessigsäure	Indole-Acetic Acid
L	Schicht	Layer
NAA	α -Naphthalen-Essigsäure	α -Naphthalene-Acetic Acid
TTD	Tetraploid-Tetraploid-Diploid	Tetraploid-Tetraploid-Diploid
WWW	Weiß-Weiß-Weiß	White-White-White

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1 Einleitung und Problemstellung	1
2 Material und Methoden	5
2.1 Material	5
2.1.1 <i>Peperomia serpens</i> SW. LOUD	5
2.1.2 <i>Sedum rubrotinctum</i> R. T. CLAUSEN	5
2.1.3 <i>Pedilanthus tithymaloides</i> (L.) POIT	6
2.1.4 <i>Plectranthus coleoides</i> BENTH	7
2.2 Methoden	8
2.2.1 Histologische Untersuchungen zum Bau des Sprossscheitels	8
2.2.1.1 Paraffinmethode	8
2.2.1.2 Kunststoffmethode	9
2.2.2 Untersuchungen zur Blattanatomie	10
2.2.3 Quantitative Musteranalyse des Blattmesophylls	10
2.2.3.1 Quantitative Musteranalyse des Blattmesophylls bei <i>Sedum rubrotinctum</i>	10
2.2.3.2 Quantitative Musteranalyse des Blattmesophylls bei <i>Pedilanthus tithymaloides</i> und <i>Peperomia serpens</i>	11
2.2.4 Untersuchungen zur Blattregeneration	11
2.2.4.1 In-vivo-Blattregeneration bei <i>Peperomia serpens</i>	11
2.2.4.2 In-vitro-Blattregeneration bei <i>Peperomia serpens</i>	12
2.2.4.3 Untersuchungen zur Blattregeneration bei <i>Sedum rubrotinctum</i>	13
2.2.5 Untersuchungen zur Bildung des Blattmesophylls nach einer Kolchizinbehandlung bei <i>Plectranthus coleoides</i>	13
2.2.5.1 Untersuchungen zur Ploidiebestimmung	14
2.2.5.2 Quantitative Musteranalysen des Blattmesophylls von Ploidiechimären	14
2.2.6 Datenaufbereitung	14
2.2.6.1 Datenverarbeitung der quantitativen Musteranalysen des Blattmesophylls	14
2.2.6.2 Datenaufbereitung der Blattregeneration	15
3 Ergebnisse	16
3.1 Histologische Untersuchungen zum Bau des Sprossscheitels	16
3.1.1 <i>Peperomia serpens</i>	16
3.1.2 <i>Sedum rubrotinctum</i>	17
3.1.3 <i>Pedilanthus tithymaloides</i>	18
3.1.4 <i>Plectranthus coleoides</i>	20
3.2 Untersuchungen zur Blattanatomie	21
3.2.1 <i>Peperomia serpens</i>	21
3.2.2 <i>Sedum rubrotinctum</i>	22
3.2.3 <i>Pedilanthus tithymaloides</i>	23
3.2.4 <i>Plectranthus coleoides</i>	25
3.3 Quantitative Musteranalyse des Blattmesophylls	26
3.3.1 <i>Sedum rubrotinctum</i>	26
3.3.1.1 Beschreibende Statistik der Blattquerschnittfläche	26
3.3.1.2 Vergleich der gesamten Blattquerschnittflächen	35
3.3.1.3 Vergleich der Blattquerschnittflächen L2-bürtiger Blattränder	37
3.3.1.4 Vergleich der Blattquerschnittflächen L3-bürtiger Binnenfelder	38

3.3.2	<i>Pedilanthus tithymaloides</i>	39
3.3.2.1	Vergleich der Blattmesophyllhöhe genetisch verschiedener L2-bürtiger Blattränder	40
3.3.2.2	Vergleich der Blattmesophyllhöhe genetisch verschiedener L3-bürtiger Binnenfelder	41
3.3.3	<i>Peperomia serpens</i>	43
3.3.3.1	Vergleich der Blattmesophyllhöhe genetisch verschiedener L2-bürtiger Blattränder	43
3.3.3.2	Vergleich der Blattmesophyllhöhe genetisch verschiedener L3-bürtiger Binnenfelder	44
3.4	Untersuchungen zur Adventivsprossregeneration	46
3.4.1	In-vivo-Adventivsprossregeneration bei <i>Peperomia serpens</i>	46
3.4.1.1	Häufigkeitsanalyse der Adventivsprossregeneration bei der Weißkernform von <i>Peperomia serpens</i>	48
3.4.1.2	Häufigkeitsanalyse der Adventivsprossregeneration bei der Weißrandform von <i>Peperomia serpens</i>	49
3.4.2	In-vitro-Adventivsprossregeneration bei <i>Peperomia serpens</i>	50
3.4.2.1	Vergleich der Häufigkeitsverteilungen der Adventivsprossregeneration bei der Weißkernform von <i>Peperomia serpens</i>	53
3.4.2.2	Vergleich der Häufigkeitsverteilungen der Adventivsprossregeneration bei der Weißrandform von <i>Peperomia serpens</i>	55
3.4.2.3	Histologische Untersuchungen zum Bau des Kallus in der Blattregeneration	56
3.4.3	In-vivo-Adventivsprossregeneration bei <i>Sedum rubrotinctum</i>	57
3.4.3.1	Häufigkeitsanalyse der Adventivsprossregeneration bei den Chimären von <i>Sedum rubrotinctum</i>	61
3.4.3.2	Untersuchungen zum Bau der Adventivsprosse im Blattregenerationsversuch	62
3.5	Untersuchungen zur Bildung des Mesophylls nach einer Polyploidisierung bei <i>Plectranthus coleoides</i>	64
3.5.1	Untersuchungen zur Ploidiebestimmung	64
3.5.2	Quantitative Musteranalysen des Blattmesophylls von Ploidiechimären	71
3.5.2.1	Vergleich der Höhe doppeltmarkierter L2-bürtiger Blattmesophyllschichten	71
3.5.2.2	Vergleich der Höhe doppeltmarkierter L3-bürtiger Blattmesophyllschichten	72
4	Diskussion	73
4.1	Beurteilung der histogenetischen Konstitution des verwendeten Pflanzenmaterials	73
4.2	Musteranalysen des Blattmesophylls zur Klärung der Gewebekonkurrenz	76
4.3	Betrachtungen zur Gewebekonkurrenz während der Adventivsprossbildung	79
4.3.1	Zur Adventivsprossbildung bei <i>Peperomia serpens</i>	80
4.3.2	Zur Adventivsprossbildung bei <i>Sedum rubrotinctum</i>	83
4.4	Zur Gewebekonkurrenz von Ploidiechimären	85
4.4.1	Ploidienachweise	86
4.4.2	Quantitative Musteranalysen des Blattmesophylls von Ploidiechimären	87
5	Zusammenfassung	89
6	Literaturverzeichnis	93
	Selbstständigkeitserklärung	103
	Danksagung	104

Abbildungsverzeichnis

	Seite
Abb. 1 Blätter von <i>Peperomia serpens</i>	5
Abb. 2 Blätter von <i>Sedum rubrotinctum</i>	6
Abb. 3 Blätter von <i>Pedilanthus tithymaloides</i>	7
Abb. 4 Blätter von <i>Plectranthus coleoides</i>	7
Abb. 5 Varianten der Blattstecklinge der Weißrandform von <i>Peperomia serpens</i>	12
Abb. 6 Varianten der Blattstecklinge der Weißkernform von <i>Peperomia serpens</i>	12
Abb. 7 Medianer Längsschnitt durch den Sprossscheitel der Weißrandform von <i>Peperomia serpens</i>	16
Abb. 8 Medianer Längsschnitt durch den Sprossscheitel der Weißkernform von <i>Peperomia serpens</i>	17
Abb. 9 Medianer Längsschnitt durch den Sprossscheitel der Weißrand- und Weißkernform von <i>Sedum rubrotinctum</i>	18
Abb. 10 Medianer Längsschnitt durch den Sprossscheitel der Weißrand- und Weißkernform von <i>Pedilanthus tithymaloides</i>	19
Abb. 11 Medianer Längsschnitt durch den Sprossscheitel der Weißrand- und Weißkernform von <i>Plectranthus coleoides</i>	20
Abb. 12 Querschnitt aus dem Mittelfeld eines Weißrand- und Weißkernblattes von <i>Peperomia serpens</i>	22
Abb. 13 Querschnitt im Mittelfeld eines Weißrand- und Weißkernblattes von <i>Sedum rubrotinctum</i>	23
Abb. 14 Querschnitt des Mittelfeldes eines Weißrand- und Weißkernblattes von <i>Pedilanthus tithymaloides</i>	24
Abb. 15 Querschnitt des Mittelfeldes eines Weißrand- und Weißkernblattes von <i>Plectranthus coleoides</i>	25
Abb. 16 Darstellung der Häufigkeitsverteilung der gesamten Blattquerschnittfläche rein grüner Blätter von <i>Sedum rubrotinctum</i>	27
Abb. 17 Darstellung der Häufigkeitsverteilung der gesamten Blattquerschnittfläche weißkerniger Blätter von <i>Sedum rubrotinctum</i>	30
Abb. 18 Darstellung der Häufigkeitsverteilung der verschiedenen Anteile der Blattquerschnittfläche der Weißkernform von <i>Sedum rubrotinctum</i>	31
Abb. 19 Darstellung der Häufigkeitsverteilung der gesamten Blattquerschnittfläche weißrandiger Blätter von <i>Sedum rubrotinctum</i>	32
Abb. 20 Darstellung der Häufigkeitsverteilung der verschiedenen Anteile der Blattquerschnittfläche der Weißrandform von <i>Sedum rubrotinctum</i>	34
Abb. 21 Vergleich der Mittelwerte der gesamten Blattquerschnittflächen genetisch unterschiedlicher Blätter von <i>Sedum rubrotinctum</i>	36

Abb. 22	Vergleich der Blattquerschnittfläche des L2-bürtigen Blattrandes verschiedener Blattmuster von <i>Sedum rubrotinctum</i>	37
Abb. 23	Vergleich der Blattquerschnittfläche des L3-bürtigen Binnenfeldes verschiedener Blattmuster von <i>Sedum rubrotinctum</i>	38
Abb. 24	Vergleich der Mittelwerte der Blattquerschnittfläche genetisch unterschiedlicher Blätter und Blattanteile von <i>Sedum rubrotinctum</i>	39
Abb. 25	Vergleich der Mesophyllhöhe des L2-bürtigen Blattrandes verschiedener Blattmuster von <i>Pedilanthus tithymaloides</i>	41
Abb. 26	Vergleich der Mesophyllhöhe des L3-bürtigen Binnenfeldes verschiedener Blattmuster von <i>Pedilanthus tithymaloides</i>	42
Abb. 27	Vergleich der Mittelwerte der Blattmesophyllhöhe genetisch unterschiedlicher Blattanteile von <i>Pedilanthus tithymaloides</i>	42
Abb. 28	Vergleich der Mesophyllhöhe des L2-bürtigen Blattrandes verschiedener Blattmuster von <i>Peperomia serpens</i>	44
Abb. 29	Vergleich der Mesophyllhöhe des L3-bürtigen Binnenfeldes verschiedener Blattmuster von <i>Peperomia serpens</i>	45
Abb. 30	Vergleich der Mittelwerte der Blattmesophyllhöhe genetisch unterschiedlicher Blattanteile von <i>Peperomia serpens</i>	45
Abb. 31	Adventivsprossregeneration an Blattexplantaten von <i>Peperomia serpens</i>	47
Abb. 32	Adventivsprossregeneration an achselknospenfreien Sprossen von <i>Peperomia serpens</i>	48
Abb. 33	Grafische Darstellung der In-vivo-Regenerationsindizes der Weißkernform von <i>Peperomia serpens</i>	49
Abb. 34	Grafische Darstellung der In-vivo-Regenerationsindizes der Weißrandform von <i>Peperomia serpens</i>	50
Abb. 35	In-vitro-Adventivsprossregeneration an Blattexplantaten von <i>Peperomia serpens</i>	51
Abb. 36	Querschnitt im Blattmittelfeld homohistischer Adventivsprosse der Periklinalchimären von <i>Peperomia serpens</i> bei der In-vitro-Adventivsprossregeneration	52
Abb. 37	Stomata der homohistischen Adventivsprosse der Periklinalchimären von <i>Peperomia serpens</i> bei der In-vitro-Adventivsprossregeneration	53
Abb. 38	Grafische Darstellung der In-vitro-Regenerationsindizes der Weißkernform von <i>Peperomia serpens</i>	54
Abb. 39	Grafische Darstellung der In-vitro-Regenerationsindizes der Weißrandform von <i>Peperomia serpens</i>	55
Abb. 40	Querschnitte durch die Kalli der weißen Blattexplantate von <i>Peperomia serpens</i> bei der In-vitro-Adventivsprossregeneration	56
Abb. 41	Adventivsprossbildung an Blättern der Weißkernform von <i>Sedum rubrotinctum</i>	58
Abb. 42	Adventivsprossbildung an Blättern der Weißrandform von <i>Sedum rubrotinctum</i>	59
Abb. 43	Bildung variegater Adventivsprosse an Blättern der Weißkern- und Weißrandform von <i>Sedum rubrotinctum</i>	59

Abb. 44	Stomata der Adventivsprosse der Periklinalchimären von <i>Sedum rubrotinctum</i> bei der In-vivo-Adventivsprossregeneration	60
Abb. 45	Grafische Darstellung der In-vivo-Regenerationsindizes der Periklinalchimären von <i>Sedum rubrotinctum</i>	61
Abb. 46	Längsschnitt durch die homohistische Adventivsprosse der Periklinalchimären von <i>Sedum rubrotinctum</i>	63
Abb. 47	Längsschnitt durch einen variegaten Adventivpross der Weißrandform bei der In-vivo-Blattregenerationsversuch von <i>Sedum rubrotinctum</i>	64
Abb. 48	Blätter der ploidiechimärischen und normalen Weißkernform von <i>Plectranthus coleoides</i>	64
Abb. 49	Blätter der ploidiechimärischen und normalen Weißrandform von <i>Plectranthus coleoides</i>	65
Abb. 50	Stomata der normalen und ploidiechimärischen Weißkernform von <i>Plectranthus coleoides</i> bei gleichem Vergrößerungsmaßstab auf Negativ	66
Abb. 51	Mesophyllzellen des Blattes der normalen und ploidiechimärischen Weißkernform von <i>Plectranthus coleoides</i> bei gleichem Vergrößerungsmaßstab auf Negativ	67
Abb. 52	Mesophyllzellen des Blattes der normalen und ploidiechimärischen Weißrandform von <i>Plectranthus coleoides</i> bei gleichem Vergrößerungsmaßstab auf Negativ	67
Abb. 53	Vergleich der Mittelwerte der Mesophyllschichthöhe genetisch unterschiedlicher Blattmuster der Weißkernform von <i>Plectranthus coleoides</i>	69
Abb. 54	Vergleich der Mittelwerte der Mesophyllschichthöhe genetisch unterschiedlicher Blattmuster der Weißrandform von <i>Plectranthus coleoides</i>	69
Abb. 55	Sprossscheitellängsschnitt im Kunststoff-Dauerpräparat der Cytochimäre (TTD) der Weißkernform von <i>Plectranthus coleoides</i>	70
Abb. 56	Sprossscheitellängsschnitt im Kunststoff-Dauerpräparat der Cytochimäre (DDT) der Weißrandform von <i>Plectranthus coleoides</i>	70
Abb. 57	Vergleich der Höhe des L2-bürtigen Blattmesophyllschicht verschiedener doppeltmarkierter Blattmuster von <i>Plectranthus coleoides</i>	71
Abb. 58	Vergleich der Höhe des L3-bürtigen Blattmesophyllschicht verschiedener doppeltmarkierter Blattmuster von <i>Plectranthus coleoides</i>	72
Abb. 59	Querschnitte durch Blätter der Diektochimäre, Mesochimäre und normal grünen Variante bei <i>Sedum rubrotinctum</i>	76
Abb. 60	Vergleich der Mittelwerte der Blattmesophyllhöhe genetisch unterschiedlicher Blattanteile von <i>Pedilanthus tithymaloides</i>	78
Abb. 61	Vergleich der Mittelwerte der Blattmesophyllhöhe genetisch unterschiedlicher Blattanteile von <i>Peperomia serpens</i>	79
Abb. 62	Vergleich der Laubblätter von normalen und ploidiechimärischen <i>Plectranthus</i> -Pflanzen	87

Tabellenverzeichnis

	Seite
Tab. 1 Beschreibende Statistiken der gesamten Blattquerschnittfläche grüner Pflanzen von <i>Sedum rubrotinctum</i>	27
Tab. 2 Beschreibende Statistiken der Blattquerschnittfläche weißkerniger Blätter mit ihren verschiedenen Flächenanteilen von <i>Sedum rubrotinctum</i>	29
Tab. 3 Beschreibende Statistiken der verschiedenen Anteile der Blattquerschnittfläche weißrandiger Blätter von <i>Sedum rubrotinctum</i>	33
Tab. 4 Test der Homogenität der Varianzen für die gesamte Blattquerschnittfläche der drei Varianten von <i>Sedum rubrotinctum</i>	35
Tab. 5 Varianztabelle der gesamten Blattquerschnittflächen genetisch unterschiedlicher Blätter von <i>Sedum rubrotinctum</i>	35
Tab. 6 T-Test der gesamten Blattquerschnittflächen genetisch unterschiedlicher Blätter von <i>Sedum rubrotinctum</i>	36
Tab. 7 Vergleich der Mittelwerte zweier Blattquerschnittflächen L2-bürtiger Blattränder von <i>Sedum rubrotinctum</i>	37
Tab. 8 Vergleich der Mittelwerte zweier Blattquerschnittflächen L3-bürtiger Binnenfelder von <i>Sedum rubrotinctum</i>	38
Tab. 9 Beschreibende Statistik der Mittelwerte der Blattmesophyllhöhen genetisch verschiedener Blattanteile von <i>Pedilanthus tithymaloides</i>	40
Tab. 10 Vergleich der Mittelwerte zweier Blattmesophyllhöhen L2-bürtiger Blattränder von <i>Pedilanthus tithymaloides</i>	40
Tab. 11 Vergleich der Mittelwerte zweier Blattmesophyllhöhen L3-bürtiger Binnenfelder von <i>Pedilanthus tithymaloides</i>	41
Tab. 12 Beschreibende Statistik der Mittelwerte der Blattmesophyllhöhen genetisch verschiedener Blattanteile von <i>Peperomia serpens</i>	43
Tab. 13 Vergleich der Mittelwerte zweier Blattmesophyllhöhen L2-bürtiger Blattränder von <i>Peperomia serpens</i>	43
Tab. 14 Vergleich der Mittelwerte zweier Blattmesophyllhöhen L3-bürtiger Binnenfelder von <i>Peperomia serpens</i>	44
Tab. 15 Adventivsprossregeneration an isolierten Blättern oder Blattexplantaten von <i>Peperomia serpens</i>	46
Tab. 16 Chi-Quadrat-Test der Adventivsprossregeneration an isolierten Blättern oder Blattexplantaten der Weißkernform von <i>Peperomia serpens</i>	48

Tab. 17	Chi-Quadrat-Test der Adventivsprossregeneration an isolierten Blättern oder Blattexplantaten der Weißrandform von <i>Peperomia serpens</i>	50
Tab. 18	In-vitro-Adventivsprossregeneration an isolierten Blattexplantaten von <i>Peperomia serpens</i>	51
Tab. 19	Chi-Quadrat-Test der Adventivsprossregeneration an isolierten Blattexplantaten der Weißkernform von <i>Peperomia serpens</i>	54
Tab. 20	Chi-Quadrat-Test der Adventivsprossregeneration an isolierten Blattexplantaten der Weißrandform von <i>Peperomia serpens</i>	55
Tab. 21	In-vivo-Adventivsprossregeneration an isolierten Blattstecklingen von <i>Sedum rubrotinctum</i>	57
Tab. 22	Chi-Quadrat-Test der Adventivsprossregeneration an isolierten Blättern von <i>Sedum rubrotinctum</i>	61
Tab. 23	Ergebnisse der Schließzellenuntersuchungen an den ploidiechimärischen und den normalen Pflanzen von <i>Plectranthus coleoides</i>	65
Tab. 24	Beschreibende Statistik der Mittelwerte der Mesophyllschichthöhen genetisch verschiedener Blattmuster der Weißkernform von <i>Plectranthus coleoides</i>	68
Tab. 25	Beschreibende Statistik der Mittelwerte der Mesophyllschichthöhen genetisch verschiedener Blattmuster der Weißrandform von <i>Plectranthus coleoides</i>	68
Tab. 26	Vergleich der Mittelwerte zweier Höhen L2-bürtiger Blattmesophyllschichten von <i>Plectranthus coleoides</i>	71
Tab. 27	Vergleich der Mittelwerte zweier Höhen L3-bürtiger Blattmesophyllschichten von <i>Plectranthus coleoides</i>	72

1 Einleitung und Problemstellung

Seit Beginn des 20. Jahrhunderts faszinierte die Histogeneseforschung Wissenschaftler verschiedener Wissensgebiete. Besonders in den achtziger Jahren ist von BERGANN & BERGANN (1982, 1983a, 1983b, 1984a, 1984b und 1984c) im Sinne RENNERS (1936a, 1936b, 1942a und 1942b) versucht worden, mit verschiedenen Arbeiten zur Entwicklungsgeschichte des Angiospermenblattes die Bedeutung der Chimärenforschung für histogenetische Untersuchungen unter Beweis zu stellen. Als Chimäre bezeichnet WINKLER (1935) Organismen oder Teile von Organismen, die aus genotypisch verschiedenen Geweben, d. h. aus Geweben von Pflanzen verschiedener Art oder Unterart, bzw. aus genetisch verschieden veränderten Geweben, bestehen. Vielzellige Pflanzen, die aus zwei oder mehr genetisch verschiedenen Zelllinien aufgebaut sind, wurden von BERGANN (1967) Heterohiston-ten bzw. Gewebemischlinge genannt (*héteros* = verschieden, *histion* = Gewebe, *ontos* = Lebewesen). Nach BERGANN (1967) bezeichnet man die extra-apikalen Heterohiston-ten (entstehen durch somatische Mutationen außerhalb der Apikalmeristeme) als Chimäroide. Im anderen Sinne sind die vegetativ vermehrbaren, intra-apikalen Heterohiston-ten bei höheren Pflanzen von BERGANN (1967) Chimären genannt worden. Bei den Chimären unterscheidet man zwischen Sektorial-, Periklinal- und Meriklinalchimären.

Besteht eine Pflanze im Sprossscheitel aus nebeneinanderliegenden, deutlich abgegrenzten genetisch verschiedenen Bereichen, so nennt man diese Verteilungsart sektorial. Chimären mit einer solchen Verteilung der Zellen heißen Sektorialchimären. Bei den Periklinalchimären liegen im Sprossscheitel voneinander unabhängige periklinale Schichten unterschiedlicher genetischer Information übereinander (BAUR 1909a, 1909b). Ein besonderer Chimärentyp, den man entwicklungsgeschichtlich in gewisser Weise vor die Periklinalchimären stellen kann, sind die Meriklinalchimären. Bei diesen Chimären besteht nur ein Teil einer Zell-Lage des Vegetationspunktes aus mutierten Zellen (JØRGENSEN & CRANE 1927).

Zum Verständnis des Wesens der Chimären ist die Kenntnis der Entwicklungsgeschichte der höheren Pflanzen notwendig. Der Sprossscheitel der Angiospermen hat im allgemeinen folgenden Bau: In seinem Innern liegt ein Zellkomplex, in dem Zellteilungen ablaufen, die nach allen Richtungen im Raum orientiert sein können. Die neugebildete Zellwand kann sowohl parallel zur äußeren Begrenzung des Vegetationspunktes liegen (periklin) als auch senkrecht dazu (antiklin) oder schräg. Dieser innere Komplex heißt das Corpus des Vegetationspunktes. Außen um das Corpus herum liegt eine bestimmte Zahl von Zellschichten, die sich im Initialfeld des Vegetationspunktes nur senkrecht zu seiner äußeren Begrenzung (also antiklin) teilen. Dadurch bleibt die Schichtenzahl dieses äußeren Mantels, der Tunica, konstant (GUTTENBERG 1960, HAGEMANN 1960, 1963 & 1970, TILNEY-BASSETT 1986). Nach SATINA, BLASKELEE & AVERY (1940 & 1941) bezeichnet man in der Chimärenforschung die Sprossscheitelschichten von außen nach innen mit L1, L2, L3,... Ln (L = Layer). Obwohl sich alle Sprossscheitelschichten an der Organogenese beteiligen, ist der Beitrag einzelner Schichten zum Aufbau vegetativer oder floraler Organe unterschiedlich (SZYMKOWIAK & SUSSEX 1992, RISCHKOW 1936).

Es gibt unterschiedliche Auffassungen zur Beteiligung genetisch verschiedener internaler Sprossscheitelschichten an der Bildung des Laubblattes bei chimärischen Pflanzen. Als besonders bedeutungsvoll für weitere Untersuchungen zur Entwicklungsgeschichte des Angiospermenblattes erwiesen sich die Arbeiten von BAUR (1909a & 1910) und RENNER (1936a & 1936b), die die Chimärentheorie mitbegründeten. In der Arbeit von DERMEN (1960) über die Natur der periklinalchimärischen Formen des Blattes bei *Citrus* und *Poinsettia* wurde außerdem festgestellt, dass die L1-Sprossscheitel-schicht die Epidermis des Laubblattes bildet, die L2- und L3-Sprossscheitelschichten dagegen alle restlichen inneren Gewebe liefern.

Eine ähnliche histogenetische Bildung des Blattes wurde beispielsweise auch in den Arbeiten von THIELKE (1948) über verschiedene Pflanzenarten, von BURK, STEWART & DERMEN (1964) und STEWART & BURK (1970) über *Nicotiana*, von STEWART, SEMENIUK & DERMEN (1974) über *Pe-largonium x hortorum*, von STEWART & DERMEN (1975) über *Ligustrum* und von KLOPPER (1965) und HOWARD (1978) über die Kartoffel (*Solanum tuberosum*) sowie von POHLHEIM (1984) über *Hedera* beschrieben. Zudem lieferten Arbeiten von BERGANN (1962a) und BERGANN & BERGANN (1960, 1962, 1982, 1983a, 1983b & 1984c) über randpanaschierte Formen der Chimären, von MARCOTRIGIANO (1986) und MARCOTRIGIANO & MORGAN (1988) über die Adventivsprossbildung und besonders von POHLHEIM (1969b, 1981 & 1985) und POHLHEIM & POHLHEIM (1976) über die Blattmesophyllbildung den Nachweis, dass die L1-Sprossscheitelschicht sich bei der Organogenese nicht immer auf die Bildung der Epidermis beschränkt, sondern auch in größerem oder geringerem Ausmaß an der Mesophyllbildung teilnehmen kann.

Mit Nachdruck hat RENNER (1936a & 1936b) auf die Bedeutung chimärischer Buntheiten zur Lösung entwicklungsgeschichtlicher Fragen hingewiesen. Die Analyse der Beteiligung genetisch verschiedener Sprossscheitelschichten an der Bildung des Blattmesophylls bietet günstige Möglichkeiten, das Konkurrenzverhalten der Deszendenten dieser Schichten bei der Histogenese zu verfolgen. Diese Vorstellung bekräftigt, dass das Studium von Periklinalchimären eine legitime Methode der Histogeneseforschung ist (BERGANN, 1985), und die Interpretation RENNERS (1936b) durch GUTTENBERG (1960) und NAPP-ZINN (1985) endgültig zurückgewiesen werden muss. Die Frage, inwieweit genetisch verschiedene Gewebe bei der Bildung eines Gewebeverbandes miteinander konkurrieren, ist noch unzureichend untersucht. Es existieren allerdings einige qualitative Beobachtungen.

Aufschlussreich sind die Studien von BERGANN & BERGANN (1982, 1983a, 1984b & 1984c) über chimärische *Peperomia*-Arten und *Sedum rubrotinctum*. Für die *Peperomia*-Arten wurde durch Provozierung adventiver Sprosse an achselknospenfreien Blättern, Blattstücken und Sprossachsen bei den Weißbrand- und Weißkernchimären nachgewiesen, dass die Abkömmlinge der drei Sprossscheitelschichten sich konkurrierend verhalten und unterschiedliche Anteile am Blatt liefern. Bei *Sedum rubrotinctum* konnte mit Hilfe von Kopf- und Achselsprossstecklingen auf ein Konkurrenzverhalten und eine Beteiligung genetisch unterschiedlicher Sprossscheitelschichten (L1, L2, L3) an der Bildung des Blattes geschlossen werden.

POHLHEIM (1985) hat mit seiner Arbeit über die Adventivsprossbildung an Blattstecklingen einer Monektochimäre (GWG) von *Peperomia obtusifolia* die Annahme des Konkurrenzverhaltens genetisch verschiedener Gewebe gestärkt.

Quantitative Untersuchungen sind jedoch nur selten durchgeführt worden. In der Arbeit von SKENE & BARLASS (1983) über *Vitis vinifera* z.B. wurde die Beteiligung genetisch verschiedener Sprossscheitelschichten durch In-vitro-Provozierung adventiver Sprosse quantitativ analysiert. Ähnliche Studien wurden von MARCOTRIGIANO (1986) und TIAN & MARCOTRIGIANO (1993) über Herkunft und Entwicklung von Adventivsprossen bei *Nicotiana*-Arten durchgeführt. Solche Untersuchungen können Aufschluss darüber geben, welche Faktoren ein Konkurrieren genetisch unterschiedlicher Gewebe beim Aufbau eines Organs bedingen. Die Erarbeitung derartiger Grundlagen ist für die Selektion von Mutanten im vegetativen Bereich von Pflanzen von Bedeutung. Die genauere Kenntnis des Verhaltens unterschiedlicher Gewebe ist sowohl bei der Neuzüchtung vegetativ vermehrbarer Arten (Schaffung synthetischer Gewebekombinationen) als auch für die Erhaltungszüchtung heterohistischer Sorten von Nutzen. Mit anderen Worten, dieses Wissen ermöglicht es, mit Hilfe von vegetativer Vermehrung andere Kombinationen von Chimären zu schaffen und zu erhalten. Eine spezielle züchterische Bedeutung erlangen diese Zusammenhänge, wenn es um eine quantitative Veränderung und damit Verbesserung von Musterstrukturen bei heterohistischen Sorten geht. Bei der Herstellung und weiteren züchterischen Bearbeitung transgener Pflanzen werden diese grundlegenden Erkenntnisse zunehmend von Wichtigkeit sein.

Die Untersuchungen sollen zunächst auf variegated Formen konzentriert werden, die sich in L2 und L3 des Sprossscheitels idiotypisch unterscheiden. Dieser Ansatz hat methodische Vorteile. Bei der Wahl eines genetischen Unterschiedes, der sich phänotypisch grün und weiß im Mesophyll manifestiert, lässt sich im entsprechenden Blatt der Anteil des idiotypisch verschiedenen Gewebes leicht nachweisen und eine quantitative Analyse des Musters vornehmen.

Wenn sich im Ausgangsmaterial die mutierte weiße Komponente in der L2 befindet und somit ein Weißrandblatt resultiert, kann der mutierte L2-Anteil im Blatt mit dem unmutierten L3-Anteil verglichen werden. Man kann davon ausgehen, dass die L1 in solchen Heterohistonoten unmutiert ist und so mit der L3 genetisch identisch ist. Nach einer L1-Reduplikation entstehen dann aus den GWG- die GGW-Chimären (BERGANN, 1962b & 1967; BERGANN & BERGANN, 1962, 1982, 1983a & 1984b), DERMEN (1960), POHLHEIM (1969a, 1977 & 1984) und TILNEY-BASSETT (1963b)). Diese neue, nach L1-Reduplikation entstandene Musterung ist eine Weißkernform und stellt eine Musterinversion der Ausgangsform dar. Es liegt jetzt eine mutierte L3 bei unmutierter L2 vor. Entsprechende Anteilsunterschiede zwischen L2 und L3 bei GWG und GGW können wichtige Anhaltspunkte zur Beeinflussung der Histogenese durch unterschiedliche Mutationen liefern. Es sollen deshalb bei mehreren Objekten (*Pedilanthus tithymaloides*, *Peperomia serpens*, *Plectranthus coleoides* und *Sedum rubrotinctum*) aus verschiedensten Verwandtschaftsbereichen, die in solchen GWG-/GGW-Paaren vorliegen, quantitative Musteranalysen durchgeführt werden. Einen Schwerpunkt stellt dabei auch die methodische Verbesserung der Bildauswertung dar.

Eine weitere Fragestellung soll die Konsequenz unterschiedlicher L2/L3-Anteile auf die Adventivspross-Population von regenerierenden Blättern sein (Objekt: *Peperomia serpens*, *Sedum rubrotinctum*). Diese Untersuchungen werden auf andere Objekte mit der Möglichkeit einer endogenen In-vitro-Regeneration aus Blattexplantaten ausgeweitet. Die quantitative Auswertung von Regeneraten verschiedener genetischer Beschaffenheit und histogenetischer Herkunft ist Grundlage für ein detaillierteres Verständnis somaklonaler Variation bei bereits vor der Inkulturnahme vorhandener Variabilität.

Eine weitere Vertiefung der Untersuchungen besteht darin, histogenetische Schlüsselstellen und Zeitpunkte für eine differentielle Histogenese aufzufinden und Hinweise für eine kausale Beurteilung der Zusammenhänge einzelner Entwicklungsabschnitte zu sammeln.

Die vorliegende Arbeit soll zur Klärung folgender Fragen beitragen:

1. Welche quantitativen Unterschiede bestehen im Muster variegater Formen, bei denen L2 und L3 des Sprossscheitels wechselseitig grün bzw. weiß markiert sind?
2. Wie lassen sich diese Muster quantitativ analysieren?
3. Welche Konsequenzen ergeben sich bei unterschiedlichen L2/L3- Anteilen im Blatt für die Zusammensetzung der Adventivsprosse von regenerierenden Blättern der verschiedenen Objekte?
4. Lassen sich histogenetische Schlüsselstellen und Zeitpunkte für die differentielle Histogenese auffinden sowie daraus Schlüsse für die kausale Beurteilung ableiten?

Die Bewertung 'Grün' (G) steht für die Eigenschaft eines Gewebes, Chlorophyll auszubilden. 'Weiß' (W) kennzeichnet die Unfähigkeit zur Chlorophyllsynthese. Ein Blattmuster der chimärischen Konstitution 'GWG' würde beispielsweise L1-bürtiges grünes, L2-bürtiges weißes und L3-bürtiges grünes Gewebe besitzen.

2 Material und Methoden

2.1 Material

Als Untersuchungsobjekte dienen die Pflanzenarten, die in der gärtnerischen Praxis genutzt werden und außerdem noch viele Anwendungen im ökologischen (NELSON & LANDGDALE 1989) und pharmazeutischen (FRANÔCA, LAGO & MARSDEN 1996; NAGDA & DESHMUKH 1998; RIVERA & OBÀON 1995; SHIROBOKOV, EVTUSHENKO, LAPCHIK, SHIROBOKOVA & SUPTTEL 1981 und VILLEGAS, FERNÂANDEZ, MALDONADO, TORRES, ZAVALA, VAISBERG & HAMMOND 1997) Sinne für die Tropen bieten werden. So zum Beispiel dienen die Blätter von *Peperomia serpens* und *Sedum rubrotinctum* neben der Assimilation auch der Wasserspeicherung. Sie sind deshalb fleischig, und als Verdunstungsschutz sind sie von einer Wachssicht überzogen. Die Pflanzen sind somit gut an heiße, trockene Umweltbedingungen angepasst.

2.1.1 *Peperomia serpens* SW. LOUD

Peperomia serpens SW. LOUD (Synonym: *Peperomia scandens* RUIZ & PAV) gehört zur Familie der *Piperaceae* (Pfeffergewächse). Ihre Heimat sind die subtropischen und tropischen Gebiete Asiens, Afrikas sowie Mittel- und Südamerikas. Der Kletter-Zwergpfeffer (*Peperomia serpens*) besitzt sukkulente dickfleischige Blätter. Seine Blätter sind groß, länger als breit, rundlich-oval und z.T. spitz auslaufend, der Blattrand ist glatt, die Mittelrippe verdickt und die Blattadern sind an der Oberfläche sichtbar.

Die Weißkernform von *Peperomia serpens* zeigt einen grünen Blattrand und ein hellgrünes Binnenfeld (Abb. 1a). Die weißrandige Musterpflanze von *Peperomia serpens* besitzt einen ausgesprochen kleinen weißen Blattrand, im Inneren befindet sich ein grünes Binnenfeld (Abb. 1b)

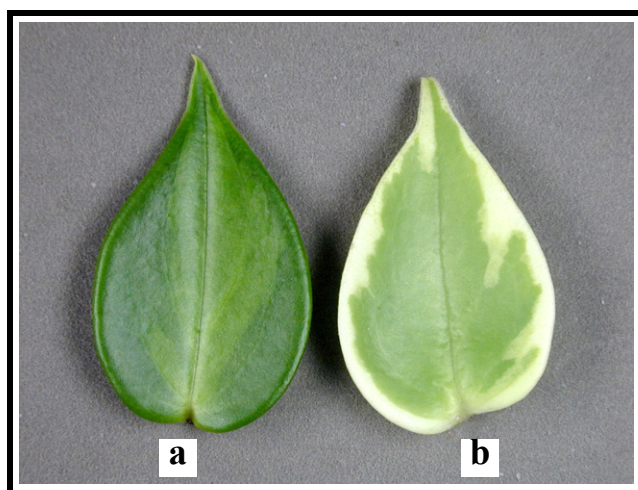


Abb. 1: Blätter von *Peperomia serpens*. (a) Weißkernform. (b) Weißrandform.

2.1.2 *Sedum rubrotinctum* R. T. CLAUSEN

Die Art *Sedum rubrotinctum* R. T. CLAUSEN (Rötliches Dickblatt) der Gattung 'Fetthenne' gehört

zur Familie *Crassulaceae* (Dickblattgewächse) und ist in Mexiko heimisch. Charakteristisch für diese Art sind die in der Regel einfachen und nebenblattlosen hellgrünen rundlichen fleischigen Blätter. Die Blätter sitzen gegenständig am Spross und sind an der Spitze rötlich gefärbt. Das Dickblatt (*Sedum rubrotinctum*) ist ein Halbstrauch. Erstaunlich ist die Vitalität dieser Art. Innere Wassergewebe, vor allem in den fleischig verdickten Blättern, bilden große Wasserreservoir und gestatten es, außerordentlich lange Trockenperioden zu überdauern, wobei das Wasser allmählich zugunsten der außerhalb liegenden grünen Gewebe schwindet.

Die Weißrandform von *Sedum rubrotinctum* ‚Aurora‘ besitzt einen schmalen weißen Blattrand, im Inneren befindet sich ein grünes Binnenfeld (Abb. 2a, 2b). Die Weißkernform von *Sedum rubrotinctum* zeigt einen grünen Blattrand und ein weißes Binnenfeld (Abb. 2c, 2d).



Abb. 2: Blätter von *Sedum rubrotinctum*. (a) Weißrandform (lachsfarbige und silbrige Blätter). (b) Längsschnitte von Blättern der Weißrandform. (c) Weißkernform (grüne Blätter). (d) Längsschnitte von Blättern der Weißkernform.

2.1.3 *Pedilanthus tithymaloides* (L.) POIT.

Pedilanthus tithymaloides (L.) Poit. (Synonym: *Pedilanthus carinatus* SPRENG.) gehört zur Familie der *Euphorbiaceae* und ist heimisch in der Region von Südmexiko bis Mittelamerika und Südkolumbien. Fleischige Blätter charakterisieren die Schuhblüte (*Pedilanthus tithymaloides*). Sie sind eiförmig, z. T. spitz auslaufend und der Blattrand ist glatt. Die Mittelrippe ist verdickt und es sind die Blattadern an der Oberfläche zu sehen.

Die Weißrand- und Weißkern-Variante von *Pedilanthus tithymaloides* bilden Blätter mit idiosyncratisch unterschiedlichen Gewebeanteilen aus. *Pedilanthus tithymaloides* ‚Weißrandform‘ zeigt einen schmalen weißen Blattrand und ein grünes Binnenfeld (Abb. 3a).

Die weißkernige Musterpflanze von *Pedilanthus tithymaloides* besitzt einen ausgesprochen breiten grünen Blattrand und ein besonders kleines weißes Binnenfeld (Abb. 3b).

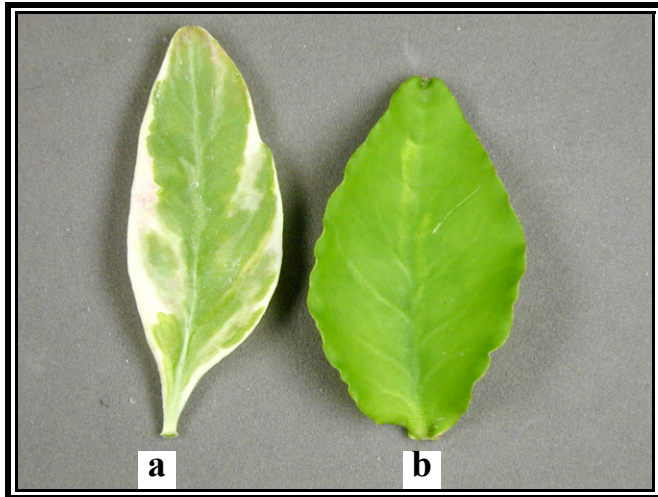


Abb. 3: Blätter von *Pedilanthus tithymaloides*. (a) Weißrandform. (b) Weißkernform.

2.1.4 *Plectranthus coleoides* BENTH

Zur Familie der Lippenblütler (*Labiatae* oder *Lamiaceae*) gehört die Art *Plectranthus coleoides* BENTH, die in Südostindien heimisch ist, aber besonders zahlreich im Mittelmeergebiet bis Vorderasien vorkommt. Der Harfenstrauch (*Plectranthus coleoides* (Synonym: *Plectanthus madagascariensis*)) ist ein Halbstrauch mit kreuzgegenständigen, nesselartigen Blättern. Die Blätter weisen keine Nebenblätter auf. Sie sind einfach, am Rande gezähnt und nur selten eingeschnitten. Die Blätter sind länger als breit, oval, z. T. spitz auslaufend und der Blattrand ist rau. Jede Ader des Blattes ist an der Oberfläche sichtbar.

Plectranthus coleoides Weißrand- und Weißkernform bilden Blätter mit idiotypisch unterschiedlichen Gewebeanteilen aus. Die Weißkernform von *P. coleoides* besitzt einen ausgesprochen breiten grünen Blattrand und ein hellgrünes Binnenfeld (Abb. 4a). Die Weißrandform von *P. coleoides* zeigt einen schmalen weißen Blattrand und ein grünes Binnenfeld (Abb. 4b).



Abb. 4: Blätter von *Plectranthus coleoides*. (a) Weißkernform. (b) Weißrandform.

Die erwähnten Pflanzen werden in den Gewächshäusern des Fachgebietes Pflanzenzüchtung kultiviert und standen für die Untersuchungen in ausreichendem Maße zur Verfügung.

2.2 Methoden

Um eine umfassende quantitative Analyse der Beteiligung genetisch verschiedener internaler Sprossscheitelschichten an der Bildung des Blattmesophylls zu führen, war es notwendig, zunächst histogenetische Untersuchungen zum Bau des Sprossscheitels und Studien der Blattanatomie jeder Variante durchzuführen. Eine Erweiterung der Untersuchungen stellte die quantitative Musteranalyse des Blattmesophylls nach Kolchizinbehandlung dar.

2.2.1 Histologische Untersuchungen zum Bau des Sprossscheitels

Für die quantitative Analyse der Beteiligung internaler Sprossscheitelschichten an der Bildung des Blattmesophylls sind Kenntnisse zum Bau des Sprossscheitels bei den Ausgangsmaterialien die Voraussetzung, um abzuleiten, von wie vielen und von welchen Sprossscheitelschichten Blattmesophyll entsteht.

2.2.1.1 Paraffinmethode

Die histologischen Untersuchungen wurden an Mikrotomschnitten durchgeführt. Die Aufbereitung der Objekte erfolgte nach ROMEIS & AL (1989):

Nach Fixierung in Carnoy (6 Teile 96%iges Ethanol, 1 Teil Eisessig, 3 Teile Chloroform) wurden die Objekte nach stufenweiser Entwässerung in die Einbettungsmedien gelegt. Die Entwässerung erfolgte mit Alkohol in einer Reihe aufsteigender Konzentrationen. Das Volumen der Entwässerungslösung sollte viel größer als das des Objekts sein. Für diese Objekte empfiehlt sich das folgende Schema:

<u>LÖSUNG</u>	<u>EINWIRKUNGSDAUER</u>
70%iges Ethanol	2 Tage
96%iges Ethanol	2 Tage
Propanol	2 Tage
Propanol / Eosin	2 Tage
Xylol	2 Tage

Die Objekte wurden nach der Entwässerung für 2 Tage in Einbettungsmedien (Xylol / Paraffin 1:1) gelegt, und dann für 2 Tage bei 60 °C zum Verdunsten im Paraffinschrank gelassen. Der letzte Schritt ist das Ausblocken in Paraffin. Die hergestellten Paraffinblöcke wurden zum Schneiden ins Mikrotom eingespannt. Die Schnitte (7 µm) wurden auf mit Eiweiß-Glycerin bestrichene Objektträger aufgezogen. Jeder Schnitt hat zwei Flächen: Die obere, die nach dem Abschneiden des vorangehenden Schnittes freigelegt wurde, ist glanzlos; die untere, die beim Schneiden entsteht, ist glänzend und glatt. Obere und untere Fläche dürfen nicht vertauscht werden, da die glänzende Fläche auf dem Objektträger in Folge von Adhäsion das Aufkleben erleichtert.

Der dem natürlichen Präparat fehlende oder mangelnde Bildkontrast wurde überwunden, indem man sich die Eigenschaft der Schnitte zu Nutze machte, dass verschiedene Zell- und Gewebeteile bestimmte Farbstoffe mit unterschiedlicher Intensität festhalten.

Nach dem Einbetten und Schneiden wurde gefärbt. Vor der Färbung müssen die Schnitte gewöhnlich vorbehandelt werden. Bei Paraffinschnitten muss vor der Färbung das Paraffin herausgelöst werden, dies erreicht man durch Einlegen in Xylol (10 Minuten). Wurden die Schnitte in wässriger Phase gefärbt, erreicht man dies durch eine „absteigende“ Alkoholreihe (100%, 96%, 96%, 70% je 2-5 Minuten). Danach werden die Schnitte in normales Leitungswasser gebracht. Zur Kern- und Cytoplasmafärbung verwendet man Hämalaun und Eosin als wässrige Lösungen. Die Schnitte wurden zur Kernfärbung für 1-2 Minuten in Hämalaun hineingestellt, danach in fließendem Leitungswasser für 10 Minuten gebläut und anschließend in Eosin für 20 Minuten gefärbt. Nach dieser zweiten Färbung wurden sie in normalem Leitungswasser für 1-5 Minuten ausgewaschen. Dann wurden die Schnitte durch die „aufsteigende“ Alkoholreihe (70%, 96%, 100%, 100% je 30-60 Sekunden) und Xylol zur Differenzierung gebracht und mit Kanadabalsam eingedeckt.

2.2.1.2 Kunststoffmethode

Auf dem Prinzip des Polymerisierens eines niedermolekularen Stoffes zu einer durchsichtigen festen Substanz beruht die Einbettung in Kunstharze, die wiederum einer gründlichen Entwässerung bedarf. Durch die feste Konsistenz soll die Dicke der angefertigten Schnitte zwischen 5 und 10 µm liegen. Zuerst erfolgt eine Fixierung der Objekte in Carnoyschem Gemisch für 24 Stunden. Nach dem Fixieren werden die Objekte direkt in Ethylenglykolmonomethylether (Methylglykolmonomethylether) für 24 Stunden zur Entwässerung gebracht. Danach werden die Materialien zur weiteren Entwässerung in eine „aufsteigende“ Alkoholreihe von Ethanol (für 24 Stunden), Propanol (für 24 Stunden) und Butanol gebracht. Nach 72 Stunden der Entwässerung in Butanol können die Objekte in Einbettungsmedien gelegt werden. Weicher (mit gewöhnlichen Mikrotomen und Messern schneidbarer) Kunststoff auf Basis von Hydroxyäthylmethacrylat (Glykolmethacrylat) wurde vom Hersteller KULZER unter der Bezeichnung Technovit 7100 entwickelt (KULZER & Co. GmbH, Deutschland). Für die Einbettung wurden die Materialien für 24 Stunden in die Vorbereitungslösung (100 ml Technovit 7100 und 1 g Dibenzoylperoxid (Härter I)) gestellt. Dann wurden die Materialien zum Ausblocken für 24 Stunden in die Plexiglas Mischung (20 ml Vorbereitungslösung + 2 ml Dimethylsulfoxid (Härter II)) gebracht. Anschließend wurden die Trägerblöcke mit der Mischung von 6 ml Lösung (Methyl-methacrylat + NN-Dimethyl-toluidin) und 10 g Pulver von Technovit 3040 (Dibenzoyl-peroxid) befestigt. In einer Dicke von 7 µm wurden die Blöcke mit dem Mikrotom geschnitten. Nach dem Schneiden wurde gefärbt. Der Farbstoff Hämalaun nach DELA FIELD (ROMEIS & AL 1989) wurde zur Kern- und Zellwanddarstellung benutzt. Die Färbezeit betrug bei 25°C und 100%iger Hämatoxylinlösung 3 Stunden oder bei 25°C und 0,02 %iger Hämatoxylinlösung 24 Stunden. Danach wurden die Schnitte in fließendem Leitungswasser für 10-15 Minuten gewässert und nach dem Trocknen mit DPX eingedeckt.

2.2.2 Untersuchungen zur Blattanatomie

Durch Untersuchungen zur Blattanatomie, speziell des Blattmesophylls besteht die Möglichkeit, die chimärische Natur von Pflanzen nachzuweisen.

Für frische Explantate wurde das Blatt mit einer Rasierklinge in der Spreitenmitte quer geschnitten. Man fertigt nun eine möglichst große Anzahl von dünnen Querschnitten an und überträgt sie mit Nadel oder Pinzette in ein Röhrchen, wo sie im Wasser entlüftet werden. Danach werden die Schnitte mit dem Pinsel in einen Wassertropfen auf den Objektträger übertragen und mit einem Deckglas bedeckt. Unter dem Laboval Binokularmikroskop (Objektivvergrößerung 40x/0,65) wurden die Querschnitte betrachtet und die dünnsten Stellen der Schnitte ausgewertet. Gelungene Präparate wurden mit Hilfe der Mikroskopfotografie unter dem Jenaval Contrast Binokulardurchlichtmikroskop (Objektivvergrößerung 12,5x/0,25 oder 10x/0,25) festgehalten.

Die Epidermispräparate wurden von Blattunterseiten hergestellt. Zur Untersuchung der Epidermis wurden die frischen Epidermisstückchen in einem Wassertropfen untersucht.

2.2.3 Quantitative Musteranalyse des Blattmesophylls

2.2.3.1 Quantitative Musteranalyse des Blattmesophylls bei *Sedum rubrotinctum*

Im Vordergrund dieses Teiles der vorliegenden Arbeit soll die quantitative Analyse der Beteiligung genetisch verschiedener internaler Sprossscheitelschichten (L2 und L3) an der Bildung des Mesophylls eines Rundblattes stehen. Diese spezielle Blattform stellt besondere Anforderungen an die Untersuchungsmethodik. Für die Analyse wurden Messungen der Blattquerschnittsoberfläche des L2- und L3-bürtigen Blattmesophylls durchgeführt.

Mit Hilfe des EDV-Programms für Bildauswertung 'Image Tool for Windows 2.0' des Medizinischen Fachbereiches der University of Texas Health Science Center in San Antonio (UTHSCSA, 1997) lassen sich auch kompliziert begrenzte ebene Flächen in ihrer Ausdehnung exakt vermessen.

Die Übertragung des Abbildes des Blattquerschnittes erfolgte durch eine Videokamera (SONY CCD-DXC-151) auf den Bildschirm des Computers. Anhand des Farbbildes auf dem Monitor lassen sich der weiße Blattrand und das grüne Binnenfeld bzw. der grüne Blattrand und das weiße Binnenfeld voneinander unterscheiden. Vor den Messungen musste die Abgrenzung der L2- und L3-bürtigen Blattmesophyllbereiche manuell per Mausklick vorgenommen werden. Die L1-bürtige Epidermis wurde von den Messungen ausgenommen, weil sie in der gesamten Fläche eine zu vernachlässigende Größe ist. Vor den Messungen wurde eine Kalibrierung mittels einer normierten Fläche (Millimeterpapier) durchgeführt.

2.2.3.2 Quantitative Musteranalyse des Blattmesophylls bei *Pedilanthus tithymaloides* und *Peperomia serpens*

Für die quantitativen Analysen der Beteiligung genetisch verschiedener Sprossscheitelschichten an der Bildung des Blattmesophylls bei unterschiedlichen chimärischen Musterpflanzen derselben Art wurde die Querschnittshöhe des Blattmesophylls (ausschließlich beider Epidermen und des Hypoderms) unter dem Laboval Binokularmikroskop (Vergrößerung 10/0,25) gemessen. Dafür wurden Blätter von relativ gleichem Entwicklungsstadium dem mittleren Teil der Sprossachse entnommen. Die Blätter wurden mit einer Rasierklinge zuerst im Blattrand, dann im Binnenfeld quer geschnitten. In einem Strichprobenumfang von 30 Laubblättern je Musterpflanze wurde die Beteiligung der Sprossscheitelschichten an der Bildung des Blattmesophylls analysiert. Von jedem Blatt wurden drei Querschnitte sowohl im Blattrandbereich als auch im Blattbinnenfeld angefertigt. Die Querschnittshöhe (von oberer Grenze des Palisadenparenchyms bis zur unteren Grenze des Schwammparenchyms) wurde fünf Mal in Bezug auf die Gesamtlänge des Schnittes gemessen. Aus den fünf Einzelmessungen pro Querschnitt wurde eine durchschnittliche Querschnittshöhe ermittelt, die anschließend statistisch ausgewertet wurde. Für den Messwert in Teilstrichen des Okularmikrometers wurde ein Faktor zur Errechnung der reellen Größe ermittelt. Er betrug 9,8 µm.

2.2.4 Untersuchungen zur Blattregeneration

Untersuchungen zur Blattregeneration an Periklinalchimären mit genetischem Unterschied in L2- und L3-bürtigen Blattmesophyllen wurden mit folgenden Fragestellungen durchgeführt:

Welche Konsequenzen ergeben sich bei unterschiedlichen L2/L3- Anteilen im Blatt für die Zusammensetzung der Adventivsprosse von regenerierenden Blättern der verschiedenen Objekte?

In welchem Verhältnis, quantitativ gesehen, stehen diese genetisch unterschiedlichen Regenerate?

Für einen größeren Versuchsumfang wurde neben der Blattstecklingskultur im Gewächshaus (Weißbrandform und Weißkernform von *Peperomia serpens* sowie von *Sedum rubrotinctum*) auch die In-vitro-Kultur (Weißbrandform und Weißkernform von *Peperomia serpens*) durchgeführt.

2.2.4.1 In-vivo-Blattregeneration bei *Peperomia serpens*

Für die Regenerationsversuche an Blattstecklingen zweier unterschiedlicher Musterpflanzen wurden zehn verschiedene Versuchsvarianten (fünf für jede Musterpflanze) verwendet. Für die Blattstecklinge bei der Weißbrandform wurde das grüne Binnenfeld bis auf einen schmalen weißen Rand ausgeschnitten, so dass der Steckling auf zwei „Beinen“ steht (erste Variante - distale Blattspreite). Für die zweite Variante dieser Regenerationsversuche wurde von der Weißbrandform der weiße Blattrand bis auf ein schmales grünes Binnenfeld entfernt, so dass der Pflanzentrieb auf einem „Bein“ steht (proximale Blattspreite). Als weitere Varianten wurden der obere halbierte und der untere halbierte Anteil des Laubblattes verwendet. Der Asseyeva-Test (ASSEYEVA 1927), der auf der Provokation von Austrieben aus achselknospenfreien Sprossachsen oder Achsenstümpfen beruht (Abb. 5), wurde als 5. Variante durchgeführt.

Für die Regenerationsversuche bei der Weißkernform wurden analog die gleichen Varianten angewendet, nur haben hier der Blattrand und das Binnenfeld eine andere Farbe (Abb. 6). Nach dem Abtrocknen der Schnittflächen wurden die Blattstücke in Vermehrungskästen in ein Torf-Sand-Gemisch flach gesteckt (teilweise wurden die Stecklinge abgestützt).

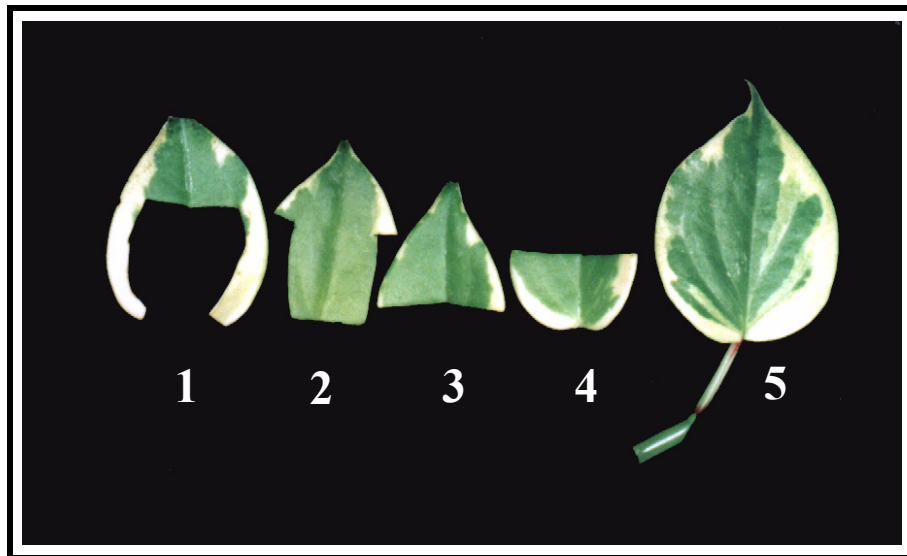


Abb. 5: Varianten der Blattstecklinge der Weißrandform von *Peperomia serpens*.

- | | |
|---------------------------|-------------------------------|
| 1. Distale Blattspreite | 4. Untere Blatthälfte |
| 2. Proximale Blattspreite | 5. Achselknospenfreier Spross |
| 3. Obere Blatthälfte | |

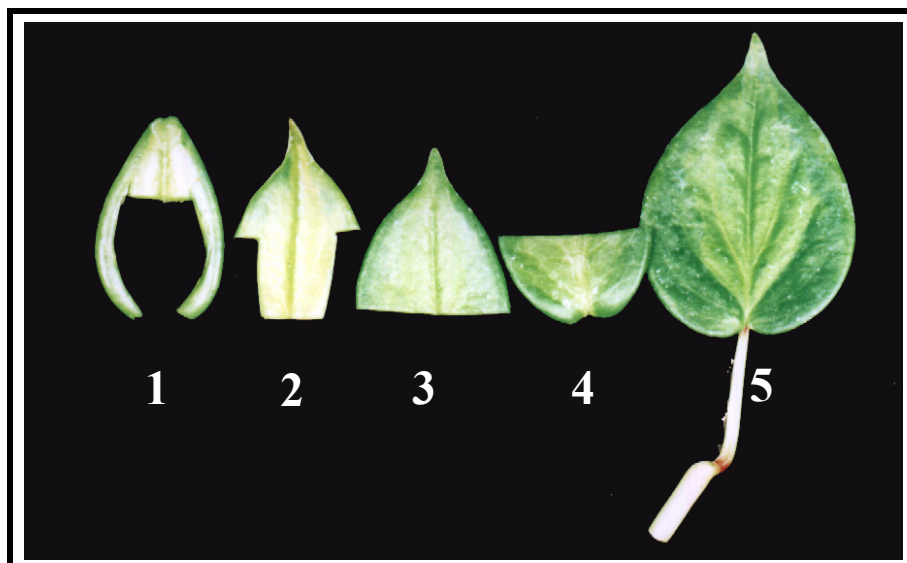


Abb. 6: Varianten der Blattstecklinge der Weißkernform von *Peperomia serpens*.

- | | |
|---------------------------|-------------------------------|
| 1. Distale Blattspreite | 4. Untere Blatthälfte |
| 2. Proximale Blattspreite | 5. Achselknospenfreier Spross |
| 3. Obere Blatthälfte | |

2.2.4.2 In-vitro-Blattregeneration bei *Peperomia serpens*

Parallel zur Erdkultur wurden Explantate aus dem Blattrandbereich und dem Binnenfeld auf ihre Eignung für die In-vitro-Kultur hin untersucht, um die Möglichkeiten an Regenerationsversuchen zu erweitern. Für die In-vitro-Kultur wurden sichtbar unbeschädigte Blätter der Weißrand- und

Weißkernform von *Peperomia serpens* ausgesucht. Zur Durchführung der In-vitro-Kultur wurden die Angaben von APOLLONIO, SCARAMUZZI & D'EMERICO (1996), HENNY (1978) und KLIMASZEWSKA (1979) verwendet und entsprechend modifiziert. Die Blätter wurden unter fließendem Wasser von anklebenden Verschmutzungen gesäubert. Vor der Sterilisation erfolgte ein Spülen mit sterilem Aqua destillata. Die Sterilisation der Explantate erfolgte unter der Laminarbox (6 Minuten) mit einer 0,25 %igen Desinfektionslösung Wofasteril E400 (Hauptbestandteil Peressigsäure), wobei als Benetzungsmittel ein Tropfen von Tween 20 pro 100 ml diente. Nach drei folgenden Spülungen mit Aqua destillata wurden die Explantate (ca. 0,5 cm²) angefertigt. Dann wurden die Stücke auf Nährmedium nach MURASHIGE & SKOOG (1962) mit der halben Menge an Makrosalzen, 30 g/l Saccharose, 100 mg/l Myo-inositol, 70 mg/l Adeninsulfat, 0,1 mg/l Naphtylelessigsäure (NAA), 1 mg/l Kinetin dem pH-Wert 5,7 und 9 g Agar-Agar aufgesetzt. Nach einer Wurzelbildung wurden die Explantate auf das gleiche MS-Medium mit 0,05 mg/l Indolylessigsäure (IAA) an Stelle von NAA umgesetzt.

2.2.4.3 Untersuchungen zur Blattregeneration bei *Sedum rubrotinctum*

Die Regenerationspotenz gesteckter Blätter, d.h. die Fähigkeit zur Wiedererzeugung neuer Pflanzenteile, ist auch bei *Sedum rubrotinctum* eine biologische Eigenschaft. Um Aussagen darüber treffen zu können, welche der genetisch verschiedenen internalen Sprossscheitelschichten sich in welchem Maße an der Bildung des Blattmesophylls beteiligen, wurden die isolierten Blätter der Weißbrand- und Weißkernform von *Sedum rubrotinctum* zur quantitativen Analyse der Bildung von Adventivsprossen in Vermehrungskästen flach in ein Torf-Sand-Gemisch gesteckt. Die Bedeutung der Epidermis wurde bei der Blattregeneration vernachlässigt, weil bereits von BERGANN & BERGANN (1984b) nachgewiesen wurde, dass die L1-bürtige Epidermis keinen Beitrag zu der Blattregeneration leistet und weil in den vorliegenden Untersuchungen festgestellt wurde, dass Blätter ohne Epidermis oder Blattstücke sich nicht regenerieren können.

2.2.5 Untersuchungen zur Bildung des Mesophylls nach einer Kolchizinbehandlung bei *Plectranthus coleoides*

Um die quantitative Analyse der Beteiligung genetisch verschiedener Sprossscheitelschichten an der Bildung des Blattmesophylls zu erweitern, ist es besser, für die Scheitelschichten eine über die gesamte Ontogenese verfolgbare doppelte Markierung zu haben. Eine eindeutige Möglichkeit dabei ist die Erhöhung des Ploidiegrades beispielsweise einer Scheitelschicht. Mit dem Ziel, die Ploidiestufe einer der internalen Sprossscheitelschichten zu erhöhen, wurde eine Kolchizinapplikation vorgenommen. Die Kolchizinbehandlung bei Periklinalchimären hat zum Ziel, einzelne Scheitelschichten mit zwei Merkmalen zu kennzeichnen, so dass möglicherweise bereits am Phänotyp, sicher jedoch durch zytologische bzw. histologische Befunde, einzelne Schichten vor allem in ihrer Histogenese klar erkannt und voneinander abgegrenzt werden können.

Die Stecklinge wurden in 0,2%ige Kolchizinlösung getaucht und für 8-10 Minuten damit infil-

triert. Nach der Behandlung erfolgte die Kultivierung im Gewächshaus. Die Selektion nach der Behandlung erfolgte zunächst auf phänotypischer Basis. Eingehend untersucht wurden daraufhin diese Pflanzen mit verschiedenen Methoden der Ploidiebestimmung.

2.2.5.1 Untersuchungen zur Ploidiebestimmung

Zytologisch und histologisch wurden ausgehend vom unterschiedlichen Phänotyp der Varianten die Größe von Schließzellen, von Zellen des Blattmesophylls und von Zellkernen der Sprossscheitelschichten gegenübergestellt sowie Unterschiede in den Zellformen untersucht. Dafür sind von Blättern Frischpräparate (Blattquerschnitte, Epidermisabzüge) und von Sprossspitzen Dauerpräparate (Kunststoffeinbettung) angefertigt worden. Abzüge der unteren Laubblattepidermis wurden demzufolge mikroskopiert, die Stomatalänge mit einem Messokular bestimmt. Über den Umrechnungsfaktor 1,5 (bei den Messungen) findet man zur wahren Länge der Schließzellen (in μm). Eine statistische Aufarbeitung der Messdaten lässt Schlüsse auf den Ploidiegrad zu.

2.2.5.2 Quantitative Musteranalysen des Blattmesophylls von Ploidiechimären

Für die quantitativen Analysen der Beteiligung genetisch verschiedener Sprossscheitelschichten an der Bildung des Blattmesophylls bei unterschiedlichen Ploidiechimären wurden die grüne und die weiße Blattmesophyllschichthöhe unter dem Laboval Binokularmikroskop (Vergrößerungsobjektiv 10/0,25) gemessen. Dafür wurden Blätter von relativ gleichem Entwicklungsstadium dem mittleren Teil der Sprossachse entnommen.

Von jedem Blatt wurden drei Querschnitte im Blattbinnenfeld angefertigt. Die Querschnittshöhe grüner und weißer Gewebe des Mesophylls wurde drei Mal in Bezug auf die Gesamtlänge des Schnittes gemessen. In einem Strichprobenumfang von 30 Laubblättern je Musterpflanze wurde die Beteiligung der Sprossscheitelschichten an der Bildung des Blattmesophylls analysiert. Für den Messwert in Teilstrichen des Okularmikrometers wurde ein Faktor zur Errechnung der reellen Größe ermittelt. Er betrug 9,8 μm .

2.2.6 Datenaufbereitung

2.2.6.1 Datenverarbeitung der quantitativen Musteranalysen des Blattmesophylls

Sammlung, Aufbau und Verwaltung der Datenbanken erfolgten im EDV-Programm SPSS (SPSS INC. 2000). Zur statistischen Auswertung der Untersuchungen am Blattmesophyll bei *Peperomia serpens*, *Pedilanthus tithymaloides*, *Plectranthus coleoides* und *Sedum rubrotinctum* wurden verschiedene statistische Verfahren (Test auf Normalverteilung, t-Test bei unabhängigen Stichproben, einfaktorielle ANOVA und χ^2 -Test (Chi-Quadrat-Test) herangezogen. Bei den Tests wurde mit 95% Wahrscheinlichkeit die Signifikanz, d.h. statistisch gesicherte Unterschiede, bzw. Nichtsignifikanz untersucht.

2.2.6.2 Datenaufbereitung der Blattregeneration

Die Schichtenbeteiligung von mutiertem Gewebe an der Bildung des Blattmesophylls kann man in entsprechenden Blattanteilen angeben. Die Regenerationsfähigkeit lässt sich nach ihrer Definition mit herkömmlicher Bonitierung kaum erfassen, daher wurde ein Regenerationsindex berechnet.

Erfassung, Aufbau und Verwaltung der Datenbanken fanden mit MS-Excel (MICROSOFT CORP., 2000) und SPSS (SPSS INC., 2000) statt. Mit Bezug auf den Regenerationsindex wurden Vergleiche von Varianten durchgeführt, was einer idealen aktiven Regenerationsfähigkeit entsprechen würde, beziehungsweise einer aktiven Beteiligung. Die resultierende Größe erhielt die Bezeichnung Regenerationsindex [I_{reg}] und die diesbezüglichen Berechnungen erfolgten nach folgender Formel:

$$I_{\text{reg}} = \frac{\sum \text{Adventivsprosstyp}^*}{\sum \text{Adventivsprosse}} \times 100 \%$$

* - Adventivsprosstyp: grün, weiß, variegat

Diese Formel wurde für die Auswertung der Blattregeneration bei *Peperomia serpens* und *Sedum rubrotinctum* verwendet.

3 Ergebnisse

3.1 Histologische Untersuchungen zum Bau des Sprossscheitels

Zahlreiche Untersuchungen an Sprossscheiteln der Angiospermen haben gezeigt, dass der Aufbau des Scheitelmeristems, von wenigen stark abgeleiteten Formen abgesehen, im wesentlichen überall dieselbe Struktur hat, weil die Gliederung des Sprossscheitels in selbstständige Schichten (L1, L2 und L3) bei allen diesen Autoren (DAVE & PATEL, 1975; GUTTENBERG, 1960; HAGEMANN 1960, 1963 und 1970, POHLHEIM, 1971a und 1971b; SCHWARZ, 1927; und STOFFBERG, 1991a und 1991b) ähnlich ist. Für die quantitative Analyse der Beteiligung genetisch verschiedener Sprossscheitelschichten an der Blattmesophyllbildung sind zunächst Kenntnisse zum Bau des Sprossscheitels des untersuchten Materials eine Grundlage, um festzustellen, inwieweit Sprossscheitel aus selbstständigen Schichten aufgebaut sind. Deshalb wurden die histologischen Untersuchungen nur auf die Gliederung des Sprossscheitels in Schichten (L1, L2, L3, ...) beschränkt. Bei *Peperomia serpens*, *Sedum rubrotinctum*, *Pedilanthus tithymaloides* und *Plectranthus coleoides* wurden jeweils von beiden Pflanzenmustern mediane Scheitellängsschnitte aus 25 Sprossscheiteln untersucht.

3.1.1 *Peperomia serpens*

Der histogenetische Bau von Sprossscheiteln in der Gattung *Peperomia* ist schon früher untersucht worden (HAGEMANN 1960). Fotodokumente lassen die Gliederung der Sprossscheitelschichten erkennen. Bei den *Peperomia*-Arten sind die Sprossspitzen äußerst klein und unscheinbar, was schon HAGEMANN (1960) für *P. magnoliaefolia* (syn. *P. obtusifolia*) und *P. glabella* bemerkte.

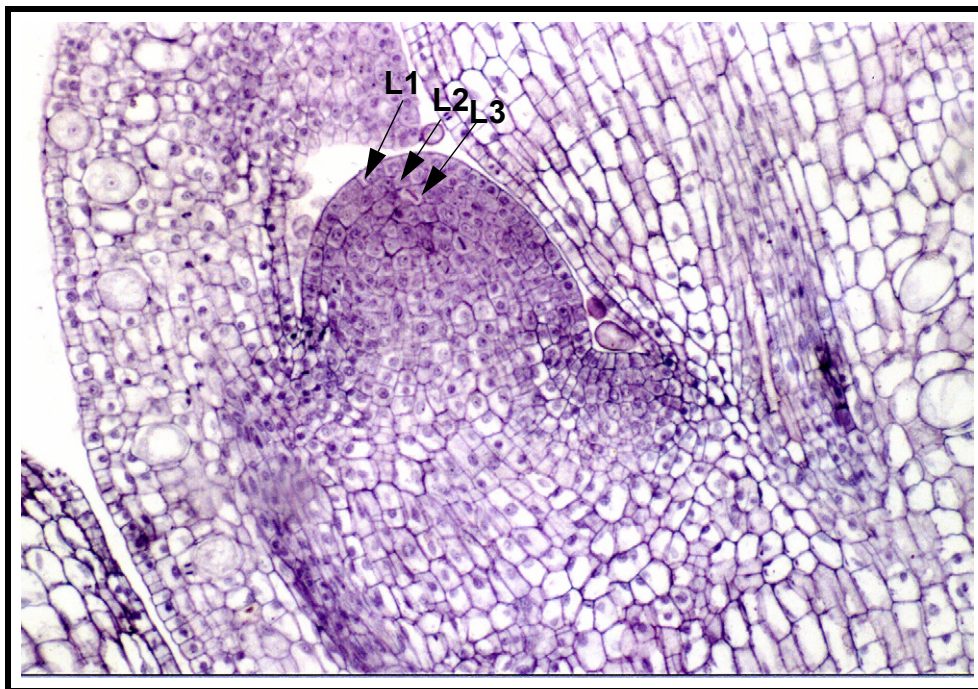


Abb. 7: Medianer Längsschnitt durch den Sprossscheitel der Weißrandform von *Peperomia serpens* (Kunststoff).
Abbildungen 7 und 8 zeigen Längsschnitte durch den Sprossscheitel zweier verschiedener Chimä-

rentypen von *Peperomia serpens*. Es ist sichtbar, dass sich die Sprossscheitel der Weißbrand- und Weißkernform von *Peperomia serpens* aus einer ersten Schicht L1, zweiten Schicht L2 und dritten Schicht L3 zusammensetzen. Aus der obersten Schicht (L1) entstehen die Epidermen des Laubblattes und aus den darunterliegenden Schichten (L2 und L3) wird das Mesophyll des Blattes gebildet.

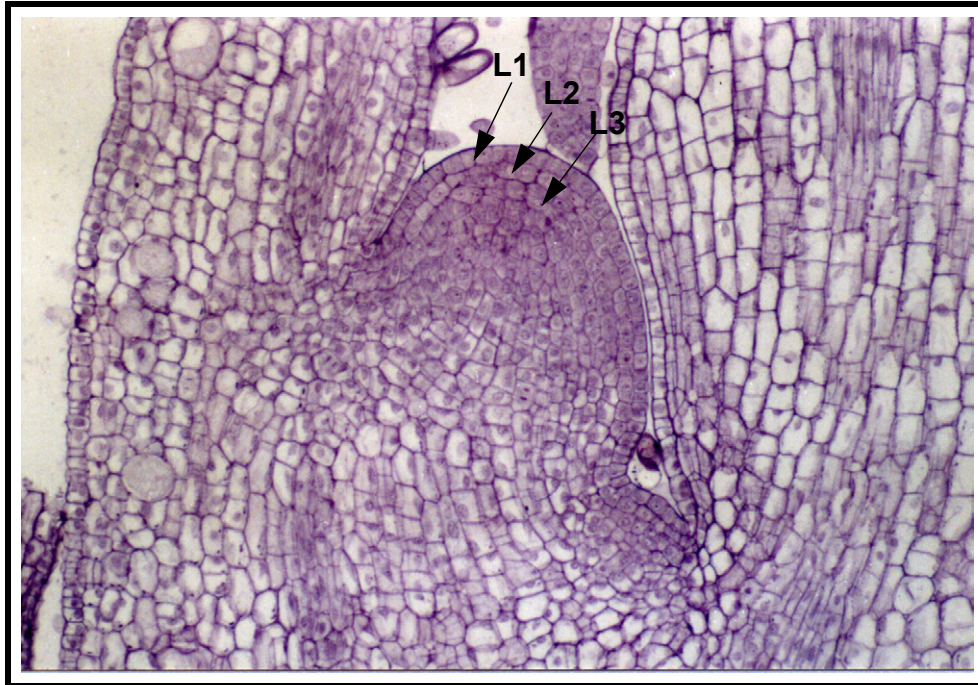


Abb. 8: Medianer Längsschnitt durch den Sprossscheitel der Weißkernform von *Peperomia serpens* (Kunststoff).

3.1.2 *Sedum rubrotinctum*

Als zweites Objekt wurde *Sedum rubrotinctum* untersucht. BERGANN & BERGANN (1984b) analysierten periklinale Chimären von *Sedum rubrotinctum*. Jedoch wurden die histologischen Untersuchungen zum Aufbau des Sprossscheitels von ihnen nicht erbracht. Deshalb sollen in der vorliegenden Arbeit solche Untersuchungen durchgeführt werden.

Die Abbildung 9 zeigt mediane Längsschnitte durch den Sprossscheitel von *Sedum rubrotinctum*. Der Längsschnitt durch den Sprossscheitel zeugt von der Struktur in drei Schichten. Sowohl die erste Schicht (L1) als auch die zweite Schicht (L2) teilen sich ausschließlich antiklin und bleiben im Sprossscheitel als Schicht erhalten (Abb. 9a, 9b). Die dritte Sprossscheitelschicht (L3) teilt sich in antikline und perikline Richtung und bildet das Corpus. In beiden Präparaten ist zu sehen, dass alle drei Scheitelschichten in das Laubblatt eingehen und sich somit auch an der Blattmusterbildung beteiligen.

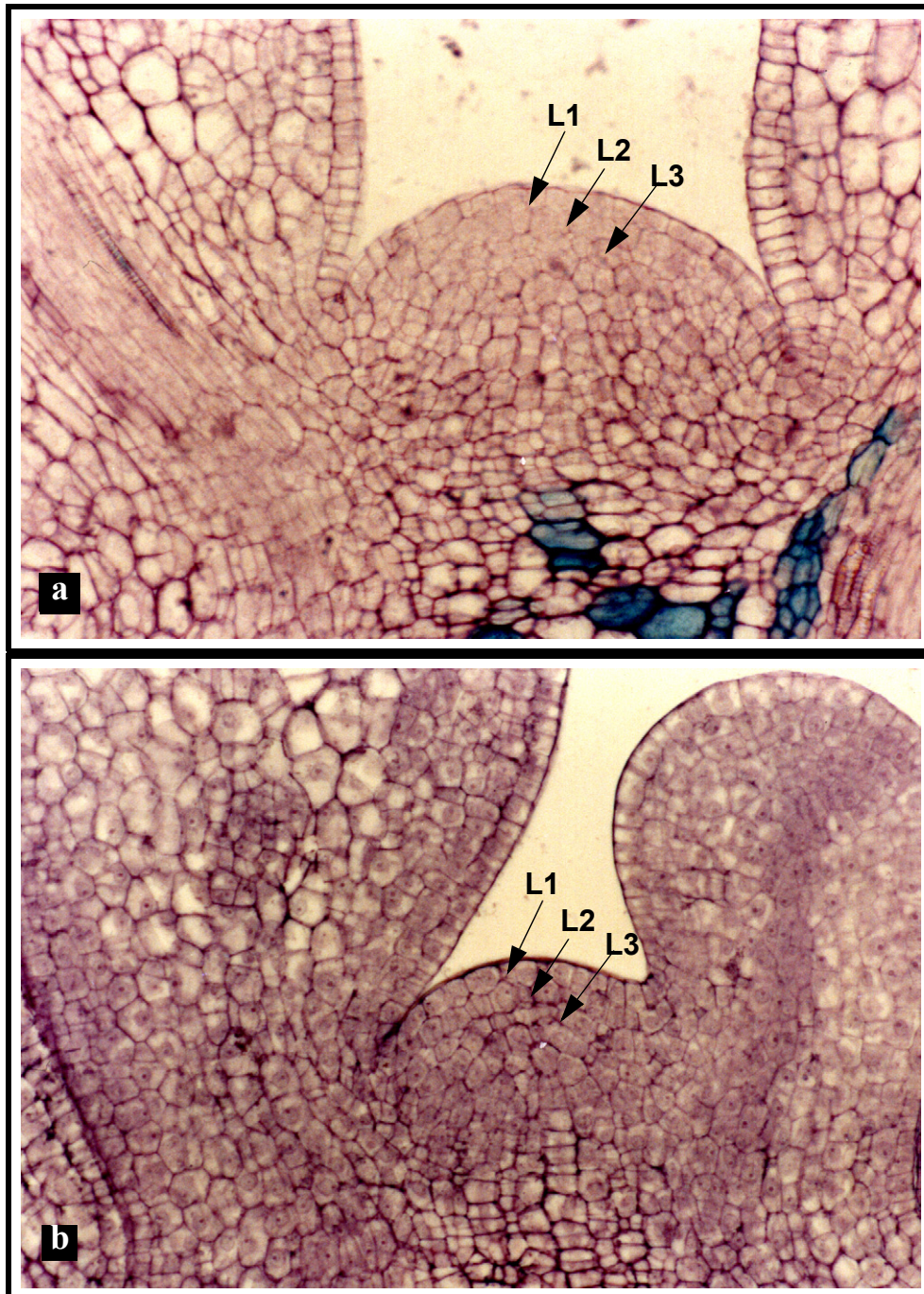


Abb. 9: Medianer Längsschnitt durch den Sprossscheitel der Weißrand- (a) und Weißkernform (b) von *Sedum rubrotinctum* (Kunststoff).

3.1.3 *Pedilanthus tithymaloides*

Histologische Untersuchungen zur Struktur und Gliederung des Sprossscheitels der Arten in der Gattung *Pedilanthus* wurden kaum durchgeführt. Insbesondere sind solche Untersuchungen für chimärische Formen von *Pedilanthus tithymaloides* bisher in der Literatur nur in einem Fall gefunden worden. DAVE & PATEL (1975) kamen zu der Ansicht, dass bei *P. tithymaloides* drei Scheitelschichten vorliegen.

In Sprossscheitellängsschnitten von Kunststoffpräparaten der Weißrand- und Weißkernform von *Pedilanthus tithymaloides* konnte ein vierschichtiger Sprossscheitel (L1, L2, L3, L4) beobachtet werden (Abb.10a, 10b). Analysen der Längsschnitte lassen feststellen, dass alle vier Sprossscheitelschichten in das Blatt eingehen und sich somit an der Blattbildung beteiligen können. Die Anzahl der selbstständigen Schichten des Sprossscheitels ist in der Regel im Achselscheitel reproduziert. Deshalb wurden Achselscheitel analysiert. Untersuchungen von zehn bei den Sprossscheitellängsschnitten median getroffenen Achselknospen zeigten, dass der Achselscheitel sich aus drei Schichten zusammensetzt. Wenn ein dreischichtiger Bau des Sprossscheitels in den Achselscheiteln reproduziert ist, dann erhebt sich die Frage über die Reproduktion und die Beteiligung der L4-Sprossscheitelschicht, weil die Struktur der beiden Scheitel in der Regel identisch ist.

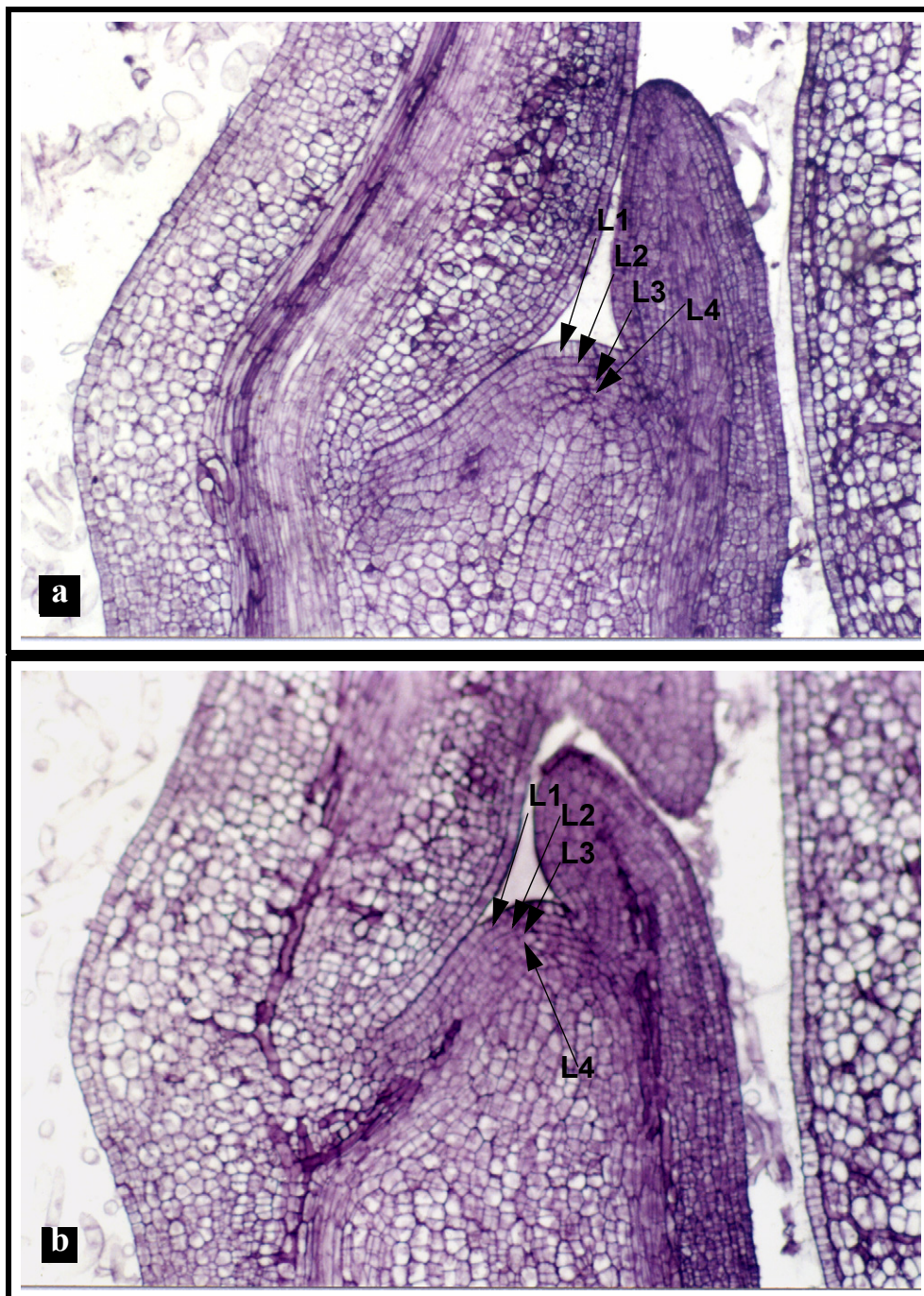


Abb. 10: Medianer Längsschnitt durch den Sprossscheitel der Weißrand- (a) und Weißkernform (b) von *Pedilanthus tithymaloides* (Kunststoff).

3.1.4 *Plectranthus coleoides*

Untersuchungen an *Plectranthus fruticosus* (SCHWARZ 1927) gaben bereits Anlass zu eingehenden Vorstellungen über die Organisation des Sprossscheitels in der Gattung. Die Abbildung 11 zeigt mediane Längsschnitte durch den Sprossscheitel von *Plectranthus coleoides*. Der Längsschnitt durch den Sprossscheitel zeugt von der Gliederung in drei selbstständige Schichten (L1, L2 und L3). Analysen des *Plectranthus*-Scheitels zeigten, dass diese Gliederung in einem direkten Zusammenhang mit der Blattbildung steht (Abb. 11a, 11b). Die Epidermis verdankt ihre Entstehung der L1-Schicht. Die L2- und L3-Sprossscheitelschichten sind bei der Mesophyllbildung beteiligt.

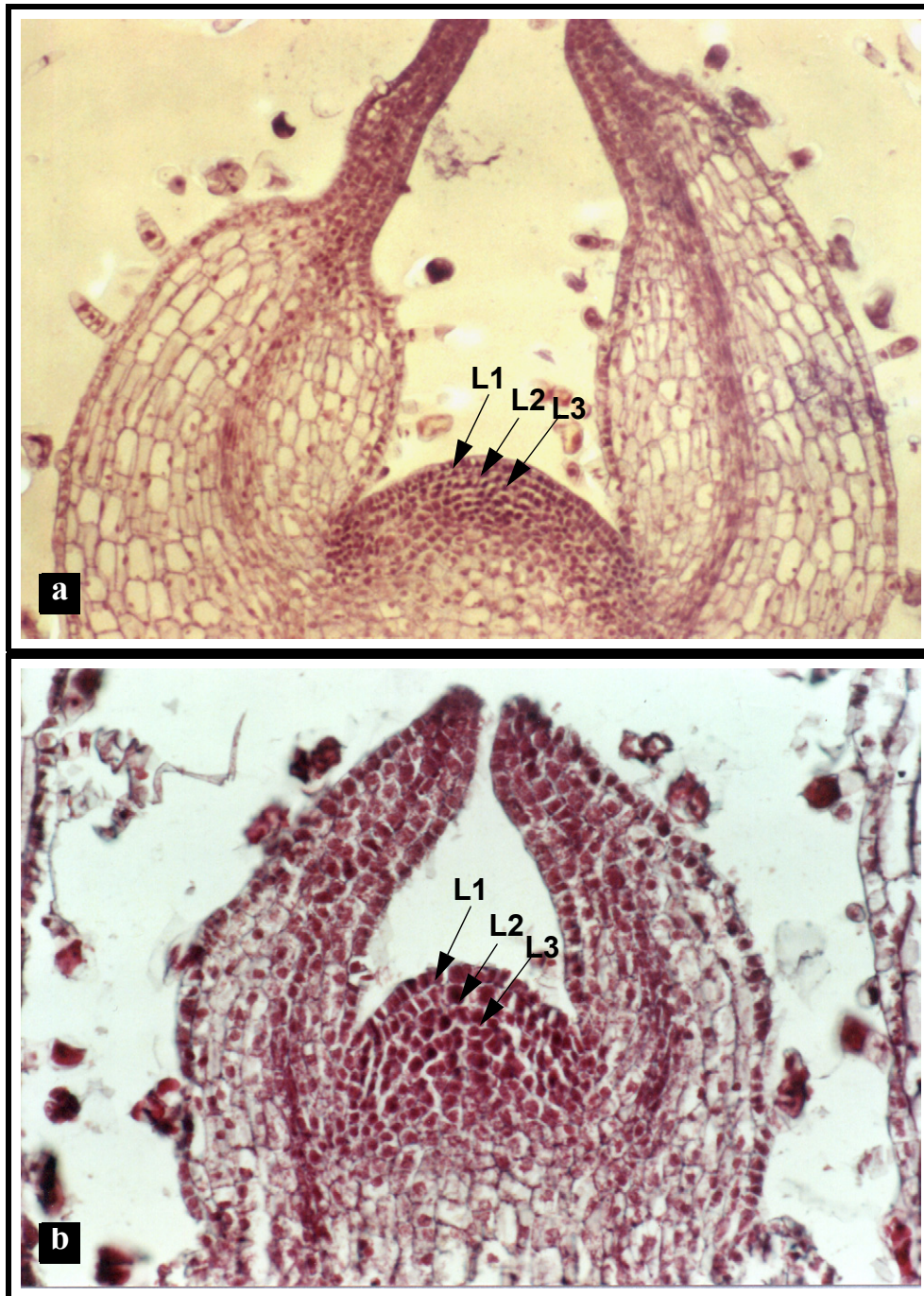


Abb. 11: Medianer Längsschnitt durch den Sprossscheitel der Weißrand- (a) und Weißkernform (b) von *Plectranthus coleoides* (a - Kunststoff; b -Paraffin).

3.2 Untersuchungen zur Blattanatomie

Eine andere Möglichkeit der Untersuchungen zur Zahl selbstständiger Sprossscheitelschichten ist die Musteranalyse weißbunter Blätter. An Hand der Musterbildung an den Blättern, die durch die Deszendenz der genetisch unterschiedlichen Komponenten im Sprossscheitel hervorgerufen wird, lässt sich hypothetisch der Scheitelaufbau und seine chimärische Konstitution ableiten (POHLHEIM, 1985). Pflanzen mit weißrandigen und weißkernigen Blättern wurden in der Literatur häufig beschrieben (TILNEY-BASSETT, 1986). Genetische Untersuchungen solcher weißbunten Formen ergaben, dass es sich in vielen Fällen um plastombedingte Weißscheckigkeit handelt. Es können aber auch andere genetische Ursachen vorliegen.

Aufgrund des Farbunterschiedes zwischen L2- und L3-bürtigem Mesophyllgewebe ist eine exakte Abgrenzung der beiden Zellherkünfte im Mesophyll möglich. Auffällig sind oft die Größenunterschiede zwischen chlorophyllintakten und chlorophylldefekten Mesophyllzellen.

3.2.1 *Peperomia serpens*

Der Blattaufbau von *Peperomia serpens* lässt sich wie folgt beschreiben: Die obere sowie die untere Epidermis ist einschichtig, wobei die Zellen der oberen Epidermis größer sind als die der unteren. Das mehrschichtige Wassergewebe mit voluminösen Zellen unterhalb der oberen Epidermis ist charakteristisch für die Gattung *Peperomia*. Darauf folgt eine Schicht charakteristischer Palisadenzellen. Es schließt sich darunter eine Schicht wie in einer Reihe angeordneter Zellen an, die den Übergang zu dem mehrschichtigen Schwammparenchym vermittelt (NAPP-ZINN, 1973).

BERGANN & BERGANN (1983a) analysierten die Periklinalchimären 'Weißrandform' und 'Weißkernform' von *Peperomia serpens*. Das Wassergewebe des *Peperomia*-Blattes gilt seit langem als mehrschichtiges L1-bürtiges Hypoderm (NAPP-ZINN, 1973, BERGANN & BERGANN, 1983a; POHLHEIM, 1985 und LÜCKE, 1989). Blattanatomische Untersuchungen zeigen, dass in den Blättern der Weißrandform die im Vergleich zum normalgrünen Blatt grüne Palisadenschicht chlorophylldefekt ist, daher muss diese Palisadenschicht L2-bürtig sein. Außerdem weisen auch drei Gewebeschichten des Schwammparenchyms an der Unterseite des Blattes diesen Chlorophylldefekt auf, weshalb sich deren Ursprung von L2 ableiten lässt. Das Übergangsgewebe und die anderen drei Gewebeschichten des Schwammparenchyms sind chlorophyllintakt, und daher L3-bürtig (Abb. 12a). Das Wassergewebe als L1-bürtiges Gewebe enthält ebenfalls Chloroplasten. Einen Nachweis des Vorliegens einer idiotypisch grünen L1-bürtigen Epidermis erbrachte ein Epidermisabzug von Laubblättern.

Die innen liegenden Mesophyllschichten im Blattquerschnitt des Mittelfeldes der Weißkernform (Abb. 12b) weisen in ihren Zellen chlorophylldefekte Plastiden auf, wogegen die übrigen Zellschichten aus chlorophyllintakten Zellen bestehen. Das L1-bürtige Hypoderm (Wassergewebe)

im Blattquerschnitt betrachtet, enthält wie bei der Weißrandform Chloroplasten. In den Schließzellen von Epidermisabzügen befinden sich ebenfalls normalgrüne Plastiden.

Ein Vergleich von Blattquerschnitten der Weißrand- und Weißkernform zeigt, dass die chlorophylldefekten Gewebeanteile kleiner als entsprechende grüne sind.

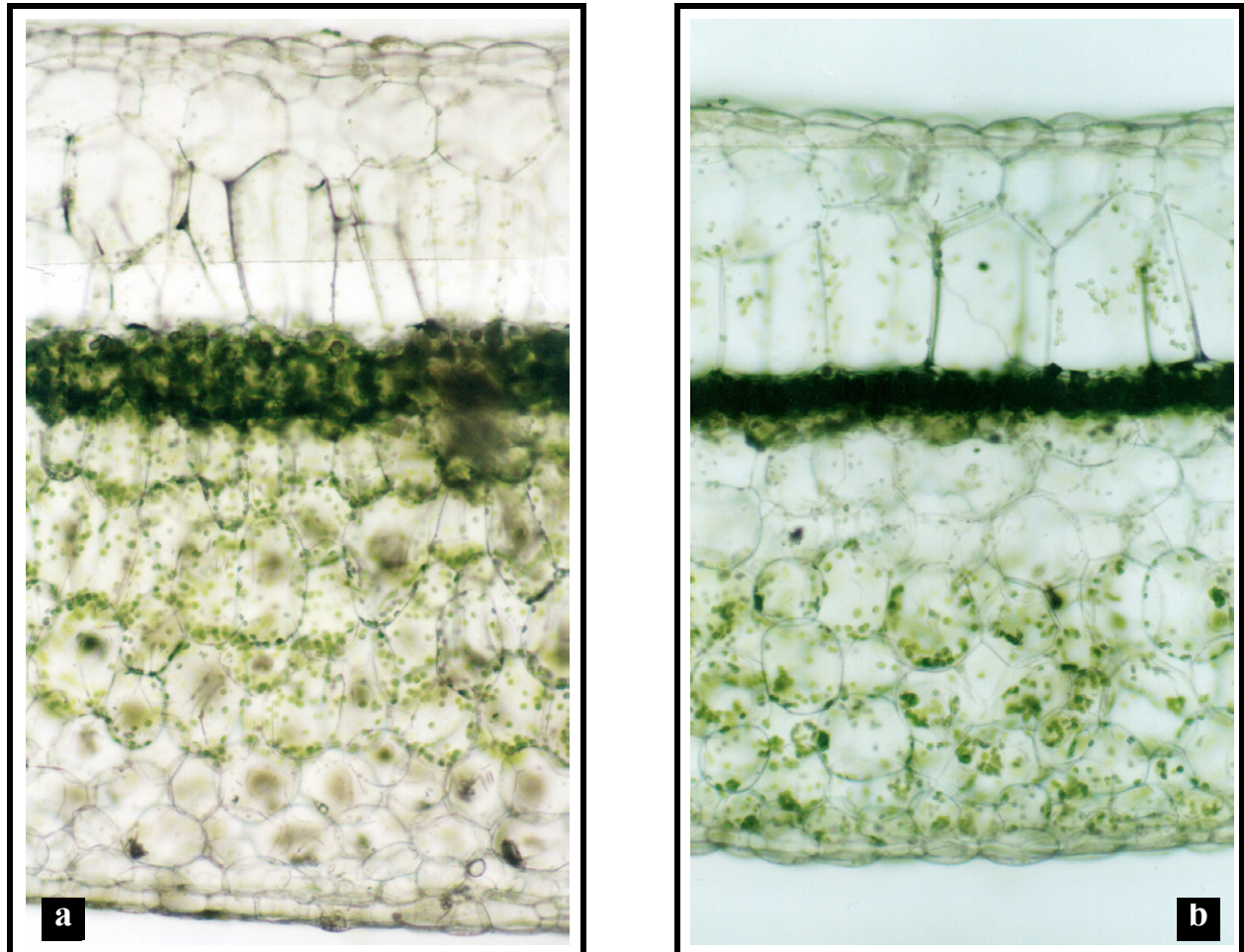


Abb. 12: Querschnitt aus dem Mittelfeld eines Weißrand- (a) und Weißkernblattes (b) von *Peperomia serpens*.

3.2.2 *Sedum rubrotinctum*

Weißbunte Formen in der Gattung *Sedum* wurden in der Literatur vornehmlich für die Art *S. rubrotinctum* erwähnt (BOOM, 1958, PUSEY, 1962 und BERGANN & BERGANN, 1984). Das gleichförmige Mesophyll, das eine Differenzierung in Palisaden- und Schwammparenchym völlig vermissen lässt, besteht im Blattquerschnitt im wesentlichen aus isodiametrisch erscheinenden Zellen von fast gleicher Größe. Vergleicht man Blattquerschnitte der beiden Varianten miteinander, so ist die Anordnung des grünen oder weißen Gewebes über einem andersfarbigen Gewebekern in aller Deutlichkeit zu erkennen.

Bei der Weißrandform enthalten die Stomata der unteren Epidermis Chloroplasten, daher ist die Epidermis grün und L1-bürtig. Außerdem ist sie stark anthocyangefärbt (Abb. 13a). Blattanatomische Untersuchungen zeigen, dass bei der Weißrandform die Gewebeschichten (4 bis 5) am Rand des Blattes nur aus chlorophylldefekten Zellen bestehen. Aus diesem Grund sind diese chlorophylldefekten weißen Mesophyllschichten L2-bürtig. Das übrige Mesophyll ist wie bei vielen Weißrandformen chlorophyllintakt und daher L3-bürtig.

Die Schließzellen der L1-bürtigen Epidermis der Weißkernform enthalten Chloroplasten. Das Mesophyll ist durch eine breite grüne Blattrandmesophyllschicht und ein kleines weißes Binnenfeldgewebe charakterisiert (Abb. 13b). L2-bürtige Blattmesophyllzellen enthalten wie bei einer Invers-Chimäre grüne Chloroplasten, während das übrige L3-bürtige Mesophyll chlorophylldefekte Zellen besitzt (Abb. 13b). Damit kann auf die periklinalchimärische Konstitution für die Weißrand- und Weißkernform von *Sedum rubrotinctum* geschlossen werden.

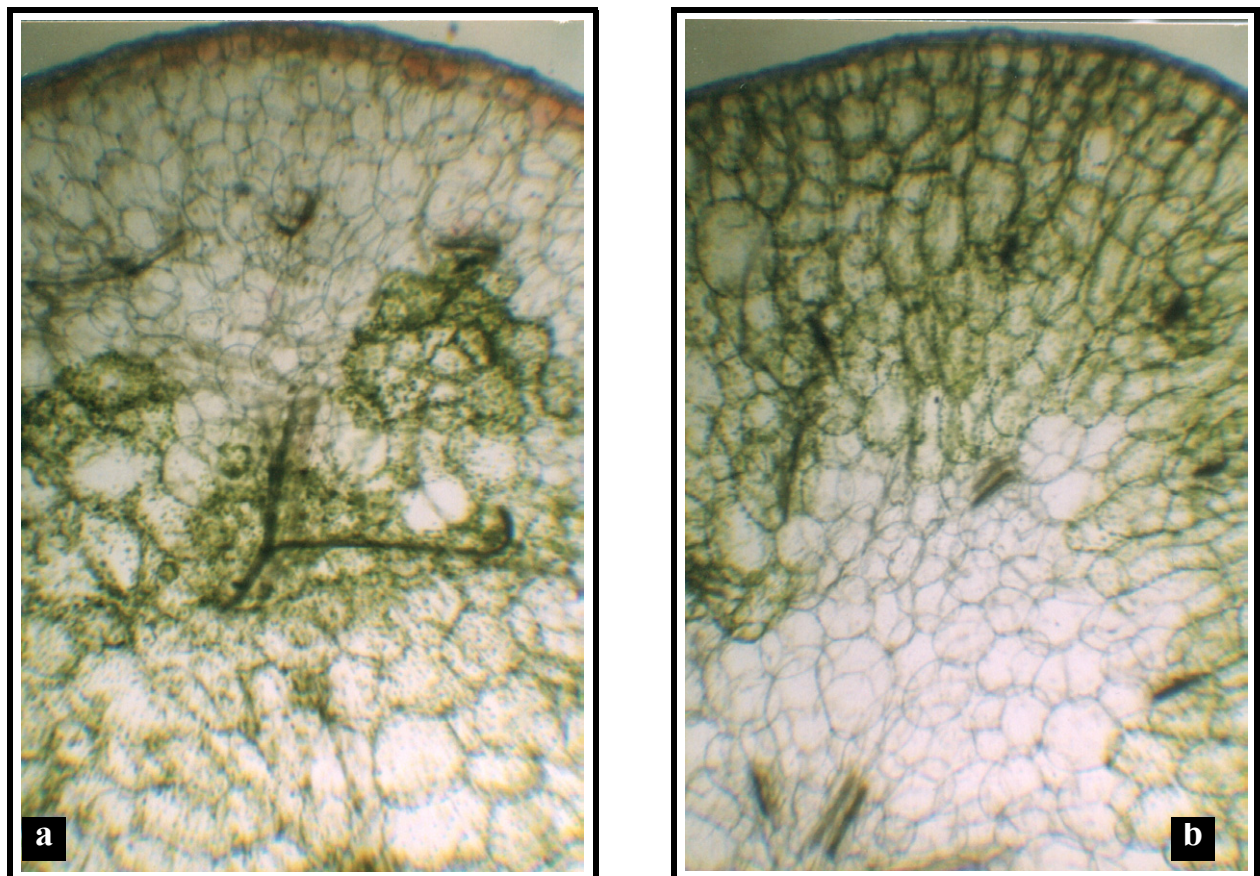


Abb. 13: Querschnitt im Mittelfeld eines Weißrand- (a) und Weißkernblattes (b) von *Sedum rubrotinctum*.

3.2.3 *Pedilanthus tithymaloides*

BRICAGE, der 1982 den Einfluss der täglichen Temperatur auf die Pigmentierung der Blätter analysierte, berichtete zur Anatomie des *Pedilanthus tithymaloides*-Blattes am Rande über die Beteiligung von drei Sprossscheitelschichten an der Blattbildung. Bei allen Blättern bestehen die drei oberen Mesophyllschichten aus langgestreckten typischen Palisadenzellen. Das Schwammparenchym besteht bei Weißrandblättern vornehmlich aus 5 bis 6, bei Blättern der Weißkernform aus 6

bis 7 Zellschichten, was die unterschiedliche Blattdicke der beiden Blattmuster bewirkt. In den Abbildungen der Querschnitte (Abb. 14a,b) wird deutlich, dass die Bildung der oberen weißen bzw. grünen Palisadenschichten auf Zellen der zweiten Sprossscheitelschicht zurückzuführen ist. Die chlorophylldefekte Schicht des Schwammparenchyms im unteren Teil des Blattquerschnittes ist ebenfalls L2-bürtig, im Gegensatz zum übrigen Blattmesophyll, das aus L3-bürtigen Zellen entsteht (Abb. 14a). Die Schließzellen der unteren Epidermis besitzen Chloroplasten, daher ist die Epidermis idiotypisch grün und L1-bürtig.

Bei der Weißkernform enthalten die Schließzellen der L1-bürtigen Epidermis grüne Chloroplasten. Querschnitte von Blättern der Weißkernform zeigen eine durchgängige, grüne Palisadenschicht. Unter dieser L2-bürtigen Palisadenschicht sind weiße Palisadenschichten, die aus L3-bürtigen Zellen entstehen (Abb. 14b). Die Schwammparenchymschicht an der Blattunterseite ist grün und damit L2-bürtig. Das Schwammparenchym enthält in der Blattmitte zwei weiße Zellschichten, die L3-bürtig sind.

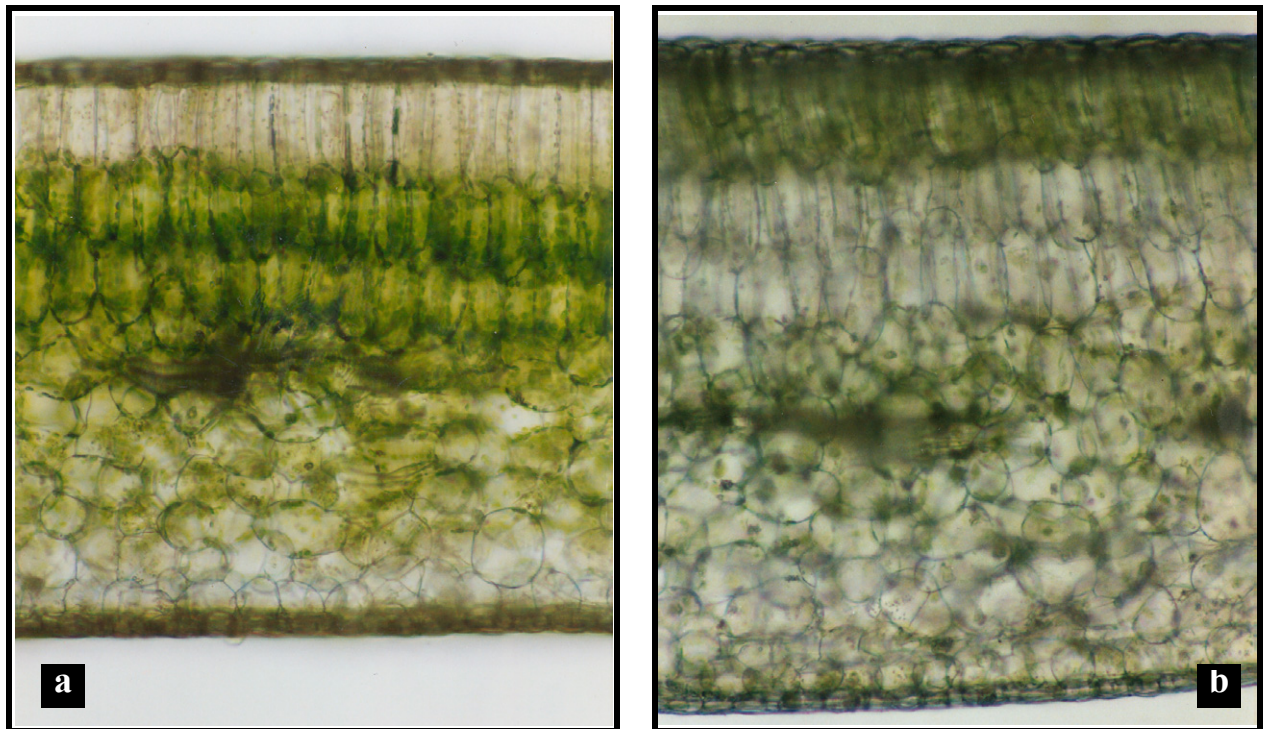


Abb. 14: Querschnitt des Mittelfeldes eines Weißbrand- (a) und Weißkernblattes (b) von *Pedilanthus tithymaloides*.

Bei genauer Durchsicht der Blattquerschnitte der Weißbrand- und Weißkernform fallen in der Mitte des Blattmesophylls grüne Gewebeschichten auf (siehe Abb. 14a,b). Ein derartiges Blattmuster müsste der Konstitution GWGG (für die Weißbrandform) bzw. der Konstitution GGWG (für die Weißkernform) entsprechen. Die grünen Gewebeschichten würden, wenn sie L4-bürtig wären, ganz in der Tiefe der Lamina widerspiegelt werden und als dunkelgrüne Gewebeinseln auf den Blättern zu sehen sein. Solche grünen Gewebeinseln wurden auf den untersuchten Blättern nicht gefunden, weshalb eine Beteiligung der L4-Sprossscheitelschicht nicht bestätigt werden kann. Es ist deshalb zu vermuten, dass die grüne Gewebeschicht im Blattquerschnitt von den Blattnerven bedeckt ist, die diese grün erscheinen lassen.

3.2.4 *Plectranthus coleoides*

Blattanatomische Untersuchungen der chimärischen Formen in der Gattung *Plectranthus* wurden bisher in der Literatur für die Art *P. coleoides* nicht gefunden. Ein Vergleich von Blattquerschnitten der Weißrand- und Weißkernform zeigt, dass die chlorophylldefekten Zellen kleiner als entsprechende grüne sind. Auffällig ist der Unterschied in der Länge der Palisadenzellen: grüne sind länger als weiße. Das Palisadenparenchym besteht bei beiden Blattmustern aus zwei genetisch unterschiedlichen (grünen und weißen) Gewebeschichten. Die übrigen Gewebeschichten des Mesophylls bilden das Schwammparenchym.

Abbildung 15a zeigt den Ausschnitt eines Blattquerschnittes der Weißrandform, der die Interpretation der Entstehung von chlorophylldefekten Mesophyllschichten aus L2-bürtigen Zellen zulässt. Alle übrigen, chlorophyllintakten Mesophyllschichten in der Mitte des Schnittes werden von L3-bürtigen Zellen gebildet (Abb. 15a). Die Stomata der unteren Epidermis enthalten Chloroplasten, daher ist die L1-bürtige Epidermis idiotypisch grün.

Bei der Weißkernform enthalten die Schließzellen der L1-bürtigen Epidermis deutlich erkennbare, grüne Chloroplasten. Blattquerschnitte zeigen im Anschluss an die obere und untere Epidermis grüne Mesophyllschichten, die aus L2-bürtigen Zellen entstehen (Abb. 15b). Der zentrale Bereich des Mesophylls besteht aus chlorophylldefekten, L3-bürtigen Gewebeschichten. Damit kann auf die periklinalchimärische Konstitution für die Weißrand- und Weißkernform geschlossen werden.

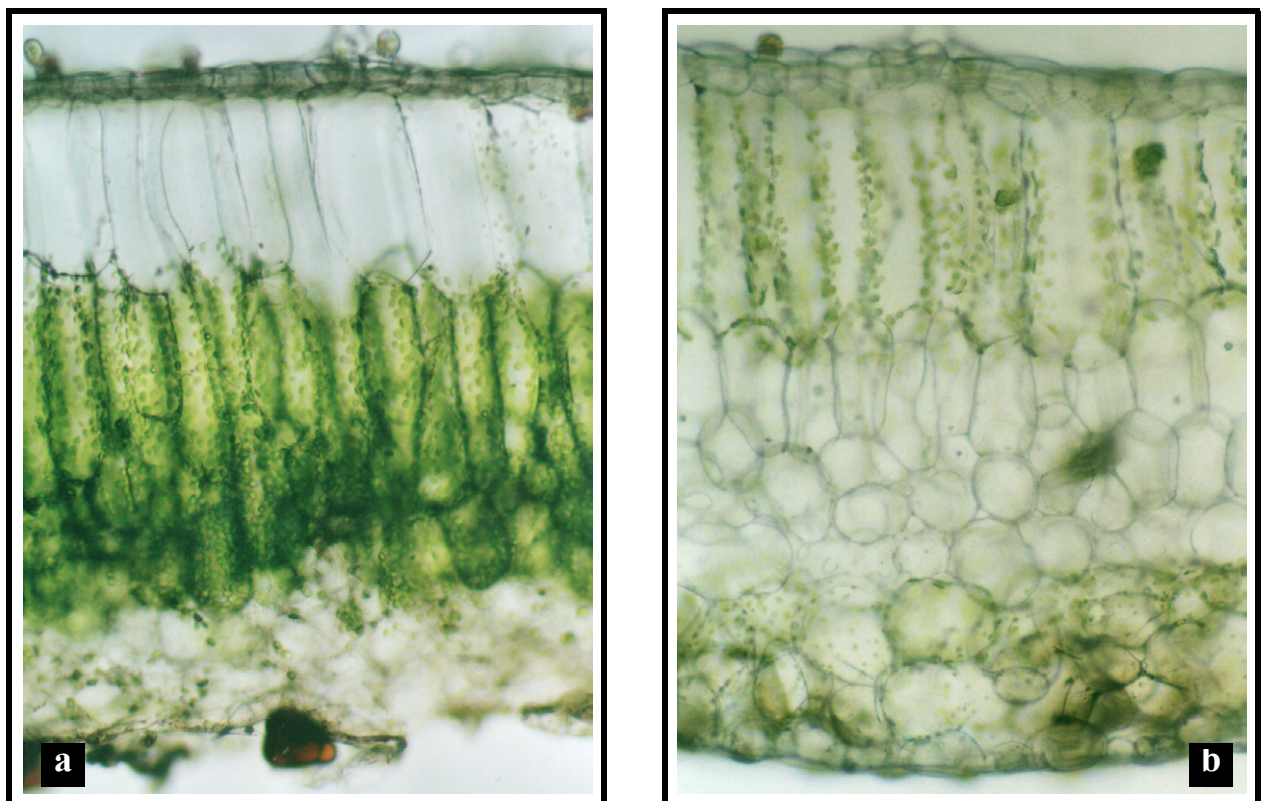


Abb. 15: Querschnitt des Mittelfeldes eines Weißrand- (a) und Weißkernblattes (b) von *Plectranthus coleoides*.

3.3 Quantitative Musteranalyse des Blattmesophylls

Das Konkurrenzverhalten unterschiedlicher Genotypen in verschiedenen Sprossscheiteln bei der Histogenese lässt sich gut erkennen, wenn die Sprossscheitelschichten durch ihre unterschiedlichen Erbanlagen farbmarkiert sind.

Innerhalb des periklinalchimärischen Blattmesophylls kann zwischen weißen und grünen Mesophyllanteilen ein quantitativer Unterschied bestehen. Es ist zu untersuchen, ob der weiße Blattmesophyllanteil einer Mesochimäre von dem entsprechenden grünen Blattmesophyllanteil einer Diektochimäre quantitativ unterschieden werden kann.

Für die quantitative Musteranalyse des Blattmesophylls wurden chimärische *Peperomia*, *Sedum* und *Pedilanthus* verwendet, weil die anatomische Struktur des Blattmesophylls bei dem weißen und grünen Blattrand bzw. dem Blattkern jeweils bei einer Art nicht besonders stark variiert. Dadurch konnten extreme Werte bei den Messungen ausgeschlossen werden.

3.3.1 *Sedum rubrotinctum*

Durch den Vergleich von Blattquerschnittflächen weißkerniger mit weißrandigen Blättern sollten Aussagen über das Konkurrenzverhalten der Genotypen von L2 und L3 bei der Blattmesophyllbildung getroffen werden, da die Blattränder und die Binnenfelder in der Regel L2 bzw. L3-bürtig sind.

Messungen der Blattquerschnittfläche wurden an beiden Pflanzenmustern durchgeführt, um Aussagen über Konkurrenzverhalten der L2- und L3-Sprossscheitelschichten in Verbindung mit den Chlorophylldefekten im Blatt treffen zu können. Die Messergebnisse wurden statistisch ausgewertet und die Aufbereitung der Messdaten grafisch dargestellt.

3.3.1.1 Beschreibende Statistik der Blattquerschnittfläche

Die Aufbereitung und Darstellung von Messdaten in Form von Tabellen, Grafiken und statistischen Maßzahlen wurden durchgeführt.

Grüne Blätter

Sind Einzelobjekte einer Grundgesamtheit Ziel der Untersuchungen, so muss man, um eine statistisch sichere Aussage zu erhalten, einen genügend großen Stichprobenumfang der Grundgesamtheit überprüfen. Als Modell wurde die Normalverteilung gewählt und geprüft, um Aussagen über Mittelwerte und Varianzen treffen zu können. Für die Blattquerschnittfläche grüner Blätter findet man die deskriptiven Statistiken in Tabelle 1.

Tab. 1: Beschreibende Statistiken der gesamten Blattquerschnittfläche grüner Pflanzen von *Sedum rubrotinctum*

Abhängige Variablen	Statistiken	Statistiktyp	
		Statistik	Standardfehler
Gesamte Blattquerschnittfläche grüner Blätter (mm ²)	Mittelwert	51,68	,15
	95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergrenze 51,38	
		Obergrenze 51,97	
	5% getrimmtes Mittel	51,61	
	Median	51,32	
	Varianz	3,37	
	Standardabweichung	1,83	
	Minimum	48,14	
	Maximum	56,40	
	Spannweite	8,26	
	Interquartilbereich	2,68	
	Schiefe	,51	,20
	Kurtosis	-,36	,39

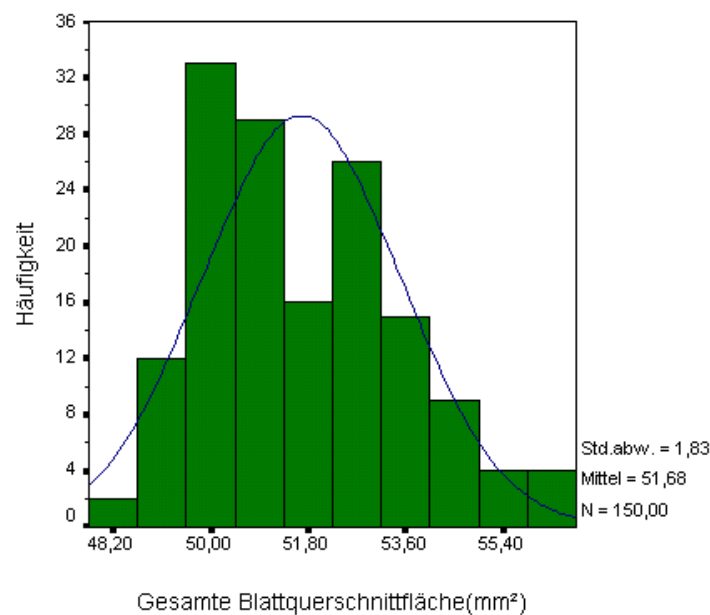


Abb. 16: Darstellung der Häufigkeitsverteilung der gesamten Blattquerschnittfläche rein grüner Blätter von *Sedum rubrotinctum*.

Der Mittelwert, berechnet aus den $n=150$ Einzelwerten, beträgt $51,68 \text{ mm}^2$. Für die Einzelwerte kann die Aussage getroffen werden, dass theoretisch für 95% der Blätter rein grüner Pflanzen eine Blattquerschnittfläche im Intervall $[51,38 \text{ mm}^2; 51,97 \text{ mm}^2]$ erwartet werden kann. Die Blattquerschnittfläche von $51,32 \text{ mm}^2$ liegt genau in der Mitte der geordneten Messwertreihe. Die Verteilung ist nicht an die Normalverteilung angepasst (Signifikanzniveau nach Kolmogorov-Smirnov-Test $\alpha = 0,001 < 0,05$), aber man kann sie als annähernd symmetrisch einschätzen. Die Blattquerschnittfläche erstreckt sich über eine Spannweite (Differenz zwischen Maximum und Minimum) von $8,26 \text{ mm}^2$. Der Interquartilbereich (Abstand zwischen dem oberen und dem unteren Quartil)

der Blattquerschnittflächen beträgt $2,68 \text{ mm}^2$. Die Varianz beträgt rund $3,37 (\text{mm}^2)^2$. Der Wert für die Standardabweichung ist $1,83 \text{ mm}^2/\text{Blatt}$. Schiefe (Abweichung der Häufigkeitsverteilung von Symmetrie) und Kurtosis haben die Werte $g_1=0,51$ bzw. $g_2=-0,36$ (Tab. 1).

Die Abbildung 16 zeigt, dass die Blattquerschnittfläche von rund $50,0 \text{ mm}^2$ am stärksten besetzt ist und 33 Blätter (22% der Stichprobe) diese Blattquerschnittfläche haben. Fast 94% der gemessenen Blätter besitzen eine Blattquerschnittfläche zwischen $49,10$ und $54,50 \text{ mm}^2$. Nur 11 Blätter haben eine Blattquerschnittfläche bis maximal $48,65 \text{ mm}^2$ (entspricht 1,3%). Mehr als $54,95 \text{ mm}^2$ wurden bei 8 Blättern (5,3%), ermittelt.

Weißkern-Blätter

Die Tabelle 2 gibt die beschreibenden Statistiken für die verschiedenen Mesophyllanteile der weißkernigen Blätter wieder. Im Durchschnitt beträgt die gesamte Blattquerschnittfläche $43,00 \text{ mm}^2$. Für die Einzelwerte kann man theoretisch voraussagen, dass für 95% der Blätter der Weißkernform eine gesamte Blattquerschnittfläche im Intervall $[42,42 \text{ mm}^2; 43,58 \text{ mm}^2]$ erwartet werden kann. Der Medianwert liegt bei $42,20 \text{ mm}^2$ für die gesamte Blattquerschnittfläche. Die Verteilung ist nicht an die Normalverteilung angepasst (Signifikanzniveau nach Kolmogorov-Smirnov-Test $\alpha=0,001 < 0,05$), aber lässt sich als annähernd symmetrisch einschätzen. Dabei erstreckt sich die Blattmesophylloberfläche über eine Spannweite von $14,24 \text{ mm}^2$. Der Interquartilbereich (Hälftespielraum) der Blattquerschnittflächen beträgt $5,5 \text{ mm}^2$. Die Varianz beträgt rund $12,98 (\text{mm}^2)^2$. Der Wert für die Standardabweichung ist $3,6 \text{ mm}^2$. Schiefe und Kurtosis haben die Werte $g_1=0,43$ bzw. $g_2=-0,76$ (Tab. 2).

Die grüne Blattquerschnittfläche beträgt im Durchschnitt $24,87 \text{ mm}^2$. Das 95%ige Konfidenzintervall des Mittelwerts ist $[24,49 \text{ mm}^2; 25,25 \text{ mm}^2]$. Die grüne Blattquerschnittfläche von $24,39 \text{ mm}^2$ liegt genau in der Mitte der geordneten Messwertreihe. Die Verteilung ist nicht an die Normalverteilung angepasst (Signifikanzniveau nach Kolmogorov-Smirnov-Test $\alpha=0,001 < 0,05$), aber man kann sie als annähernd symmetrisch einschätzen. Die Blattquerschnittfläche erstreckt sich über eine Variationsbreite von $10,81 \text{ mm}^2$. Der Interquartilbereich der Blattquerschnittflächen beträgt $3,35 \text{ mm}^2$. Die Varianz ist $5,47 (\text{mm}^2)^2$, der Wert für die Standardabweichung $2,34 \text{ mm}^2$. Schiefe und Kurtosis haben die Werte $g_1=0,48$ bzw. $g_2=-0,53$ (Tab. 2).

Der Mittelwert der Blattquerschnittfläche des weißen Anteils beträgt $18,13 \text{ mm}^2$. Das 95 %ige Konfidenzintervall des Mittelwerts ist $[17,85 \text{ mm}^2; 18,41 \text{ mm}^2]$. Die weiße Blattquerschnittfläche von $18,10 \text{ mm}^2$ ist der Zentralwert. Die Verteilung ist an die Normalverteilung angepasst, weil das Signifikanzniveau nach dem Kolmogorov-Smirnov-Test $\alpha=0,200$ größer als 0,05 ist. Die Blattquerschnittfläche erstreckt sich über eine Spannweite von $7,03 \text{ mm}^2$. Der Interquartilbereich der Blattquerschnittflächen ist $2,66 \text{ mm}^2$. Die Varianz beträgt rund $2,96 (\text{mm}^2)^2$. Der Wert für die Standardabweichung ist $1,72 \text{ mm}^2$. Schiefe und Kurtosis haben die Werte $g_1=0,12$ bzw. $g_2=-0,92$ (Tab.2).

Die grafischen Darstellungen der Häufigkeitsverteilungen der gesamten, grünen und weißen Blattquerschnittfläche weißkerniger Blätter sind in den Histogrammen der Abbildungen 17 und 18 zu finden. Die Abbildung 17 macht deutlich, dass für die gesamte Blattquerschnittfläche die Klasse von 40,25 mm² am stärksten besetzt ist und 18,7% der Stichprobe darin liegen.

Tab. 2: Beschreibende Statistiken der Blattquerschnittfläche weißkerniger Blätter mit ihren verschiedenen Flächenanteilen von *Sedum rubrotinctum*

			Statistik	Standardfehler
Gesamte Blattquerschnittfläche weißkerniger Blätter (mm ²)	Mittelwert		43,00	,29
	95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergrenze	42,42	
		Obergrenze	43,58	
	5% getrimmtes Mittel		42,91	
	Median		42,20	
	Varianz		12,98	
	Standardabweichung		3,60	
	Minimum		36,71	
	Maximum		50,95	
	Spannweite		14,24	
	Interquartilbereich		5,50	
	Schiefe		,43	,20
	Kurtosis		-,76	,39
Grüne Blattquerschnittfläche weißkerniger Blätter (mm ²)	Mittelwert		24,87	,19
	95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergrenze	24,49	
		Obergrenze	25,25	
	5% getrimmtes Mittel		24,82	
	Median		24,39	
	Varianz		5,47	
	Standardabweichung		2,34	
	Minimum		19,48	
	Maximum		30,29	
	Spannweite		10,81	
	Interquartilbereich		3,35	
	Schiefe		,48	,20
	Kurtosis		-,53	,39
Weiße Blattquerschnittfläche weißkerniger Blätter (mm ²)	Mittelwert		18,13	,14
	95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergrenze	17,85	
		Obergrenze	18,41	
	5% getrimmtes Mittel		18,12	
	Median		18,10	
	Varianz		2,96	
	Standardabweichung		1,72	
	Minimum		15,01	
	Maximum		22,04	
	Spannweite		7,03	
	Interquartilbereich		2,65	
	Schiefe		,12	,20
	Kurtosis		-,91	,39

Fast 86% der gemessenen Blätter haben eine Blattquerschnittfläche zwischen 38,75 und 47,75 mm². Nur 6 Blätter haben eine Blattquerschnittfläche bis maximal 38,00 mm² (entspricht 4 %). Bei 15 Blättern (10%) wurde eine Gesamtfläche von mehr als 48,50 mm² gemessen.

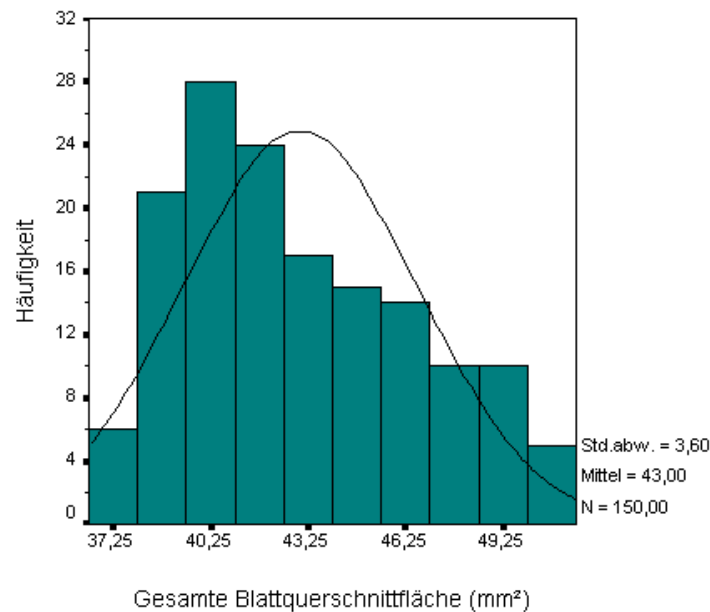


Abb. 17: Darstellung der Häufigkeitsverteilung der gesamten Blattquerschnittfläche weißkerniger Blätter von *Sedum rubrotinctum*.

Die grafische Darstellung der Häufigkeitsverteilung der Blattquerschnittfläche grüner Blattränder (Abb. 18a) zeigt, dass eine Klasse am stärksten besetzt ist - mit Blattquerschnittflächen von 23,45 mm². Die nächstgrößeren Häufigkeiten sind bei Blattquerschnittflächen von 24,65 und 22,25 mm² zu verzeichnen. Weniger als 20,45 mm² sind bei einem Blatt (0,7 %) und mehr als 28,85 mm² bei 11 Blättern (7,3%) erfasst.

Bei weißkernigen Blättern (Abb. 18b) haben 23 der untersuchten 150 Blätter eine weiße Blattquerschnittfläche von genau 18,87 mm² (häufigster Zählwert in der Stichprobe), das entspricht 15,3%. Die nächstgrößeren Häufigkeiten sind bei Blattquerschnittflächen von 16,49 und 17,42 mm² zu vermerken. Nur 12 Blätter haben Blattquerschnittflächen bis maximal 15,60 mm² (entspricht 8%). Mehr als 20,68 mm² wurde bei 12 Blättern (8%) ermittelt.

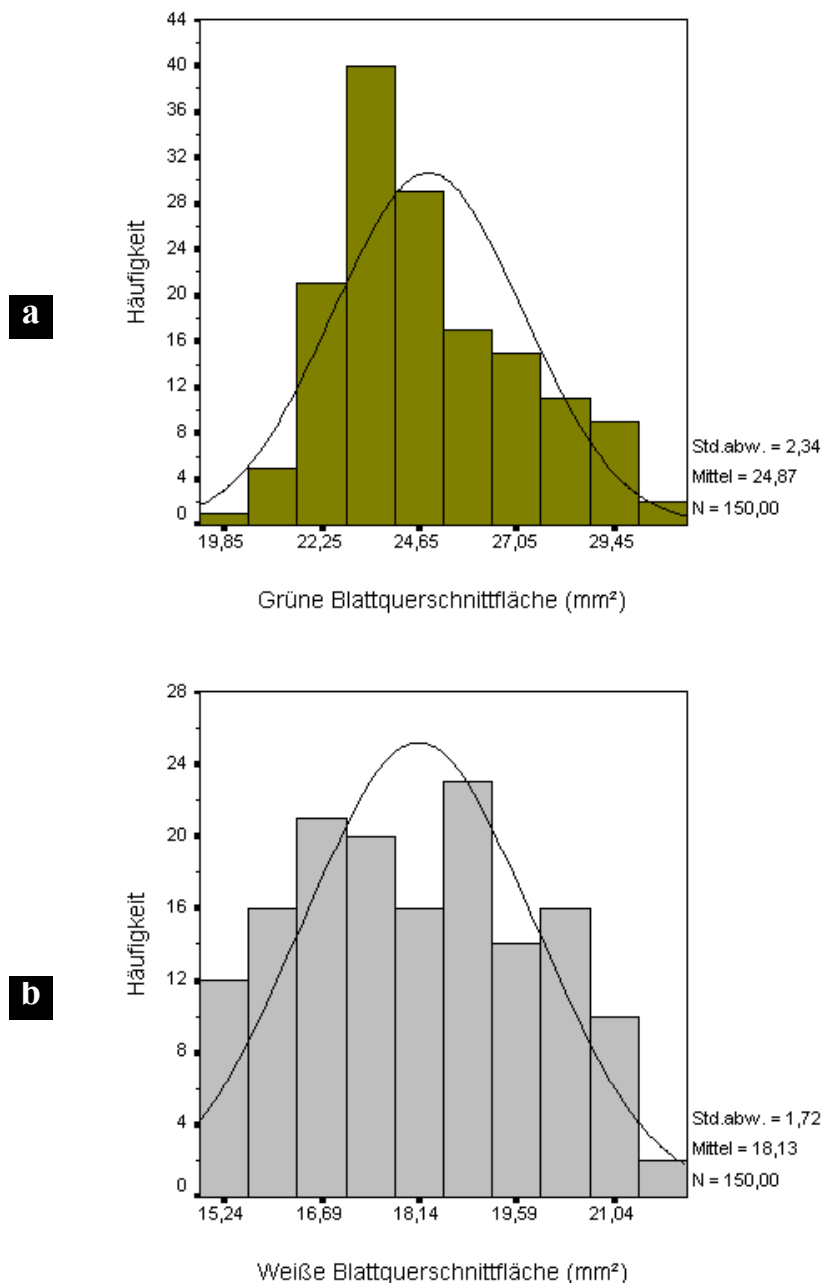


Abb. 18: Darstellungen der Häufigkeitsverteilung der verschiedenen Anteile der Blattquerschnittfläche der Weißkernform von *Sedum rubrotinctum*. (a) Blattquerschnittfläche des grünen Blattrandes. (b) Blattquerschnittfläche des weißen Binnenfeldes.

Weißbrand-Blätter

Der Mittelwert, berechnet aus den $n = 150$ Einzelwerten, beträgt $42,60 \text{ mm}^2$. Für die Einzelwerte kann man aussagen, dass für 95% der Blätter der Weißbrandform eine gesamte Blattquerschnittfläche im Intervall $[41,92 \text{ mm}^2; 43,28 \text{ mm}^2]$ erwartet werden kann. Die Blattquerschnittfläche von $43,15 \text{ mm}^2$ liegt genau in der Mitte der geordneten Messwertreihe. Die Verteilung ist an die Normalverteilung angepasst, weil das Signifikanzniveau nach dem Kolmogorov-Smirnov-Test $\alpha = 0,056$ größer als 0,05 ist. Die Blattquerschnittfläche erstreckt sich über eine Spannweite von $18,87 \text{ mm}^2$. Der Hälftespielraum der Blattquerschnittflächen beträgt $6,05 \text{ mm}^2$. Die Varianz beträgt rund

17,88 (mm²)². Der Wert für die Standardabweichung ist 4,23 mm². Schiefe und Kurtosis haben die Werte $g_1 = -0,27$ bzw. $g_2 = -0,50$ (Tab. 3)

Der Durchschnitt der Blattquerschnittfläche des weißen Anteils beträgt 19,69 mm². Das 95%ige Konfidenzintervall des Mittelwerts ist [19,34 mm²; 20,03 mm²]. Die weiße Blattquerschnittfläche von 19,86 mm² ist der Zentralwert. Die Verteilung ist an die Normalverteilung angepasst, weil das Signifikanzniveau nach dem Kolmogorov-Smirnov-Test $\alpha = 0,097$ größer als 0,05 ist. Die Blattquerschnittfläche erstreckt sich über eine Spannweite von 12,49 mm². Der Interquartilbereich der Blattquerschnittflächen ist 2,87 mm². Die Varianz beträgt rund 4,69 (mm²)². Der Wert für die Standardabweichung ist 2,16 mm². Schiefe und Kurtosis haben die Werte $g_1 = 0,20$ bzw. $g_2 = 0,24$ (Tab. 3).

Die grüne Blattmesophylloberfläche beträgt im Durchschnitt 22,92 mm². Das 95%ige Konfidenzintervall des Mittelwerts ist [22,51 mm²; 23,32 mm²]. Die grüne Blattmesophylloberfläche von 22,92 mm² liegt genau in der Mitte der geordneten Messwertreihe. Die Verteilung ist an die Normalverteilung angepasst, weil das Signifikanzniveau nach dem Kolmogorov-Smirnov-Test $\alpha = 0,200$ größer als 0,05 ist. Die Blattquerschnittfläche erstreckt sich über eine Variationsbreite von 11,63 mm². Der Interquartilbereich der Blattquerschnittflächen beträgt 3,19 mm². Die Varianz ist 6,13 (mm²)². Der Wert für die Standardabweichung ist 2,48 mm². Schiefe und Exzess haben die Werte $g_1 = -0,10$ bzw. $g_2 = -0,31$ (Tab. 3).

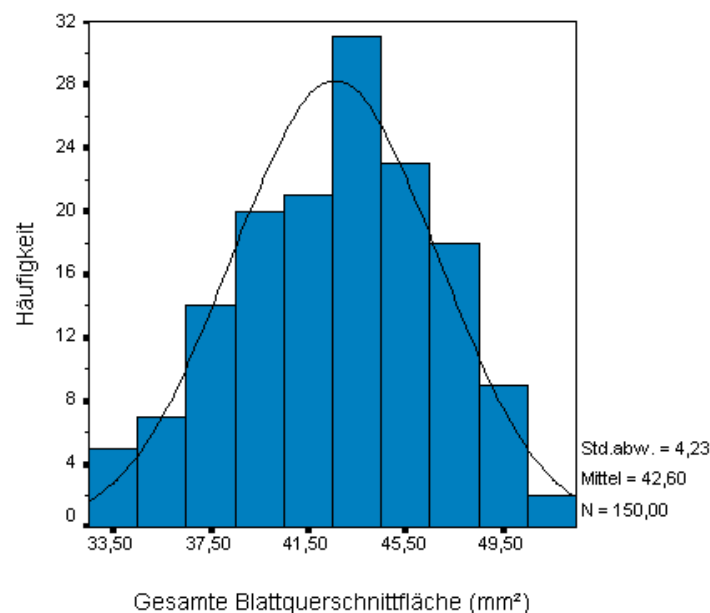


Abb. 19: Darstellung der Häufigkeitsverteilung der gesamten Blattquerschnittfläche weißrandiger Blätter von *Sedum rubrotinctum*.

Die Abbildung 19 zeigt, dass bei der Blattquerschnittfläche die Klasse von rund 43,50 mm² mit 31 Blättern (20,7% der Stichprobe) am stärksten besetzt ist. Fast 85% der gemessenen Blätter haben

eine gesamte Blattquerschnittfläche zwischen 36,50 und 48,50 mm². Nur 12 Blätter (8%) haben eine Blattquerschnittfläche bis maximal 36,50 mm². Mehr als 48,50 mm² wurde bei 11 Blättern (7,3%) gemessen.

Tab. 3: Beschreibende Statistiken der verschiedenen Anteile der Blattquerschnittfläche weißrandiger Blätter von *Sedum rubrotinctum*

			Statistik	Standardfehler
Gesamte Blattquerschnittfläche weißrandiger Blätter (mm ²)	Mittelwert		42,60	,35
	95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergrenze	41,92	
		Obergrenze	43,28	
	5% getrimmtes Mittel		42,68	
	Median		43,15	
	Varianz		17,88	
	Standardabweichung		4,23	
	Minimum		33,10	
	Maximum		51,97	
	Spannweite		18,87	
	Interquartilbereich		6,05	
	Schiefe		-,26	,20
	Kurtosis		-,50	,39
Weiße Blattquerschnittfläche weißrandiger Blätter (mm ²)	Mittelwert		19,69	,18
	95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergrenze	19,34	
		Obergrenze	20,03	
	5% getrimmtes Mittel		19,65	
	Median		19,86	
	Varianz		4,69	
	Standardabweichung		2,16	
	Minimum		15,06	
	Maximum		27,55	
	Spannweite		12,49	
	Interquartilbereich		2,87	
	Schiefe		,20	,20
	Kurtosis		,24	,39
Grüne Blattquerschnittfläche weißrandiger Blätter (mm ²)	Mittelwert		22,92	,20
	95% Konfidenzintervall des Mittelwerts	Untergrenze	22,52	
		Obergrenze	23,32	
	5% getrimmtes Mittel		22,92	
	Median		22,92	
	Varianz		6,13	
	Standardabweichung		2,48	
	Minimum		16,86	
	Maximum		28,49	
	Spannweite		11,63	
	Interquartilbereich		3,19	
	Schiefe		-,10	,20
	Kurtosis		-,31	,39

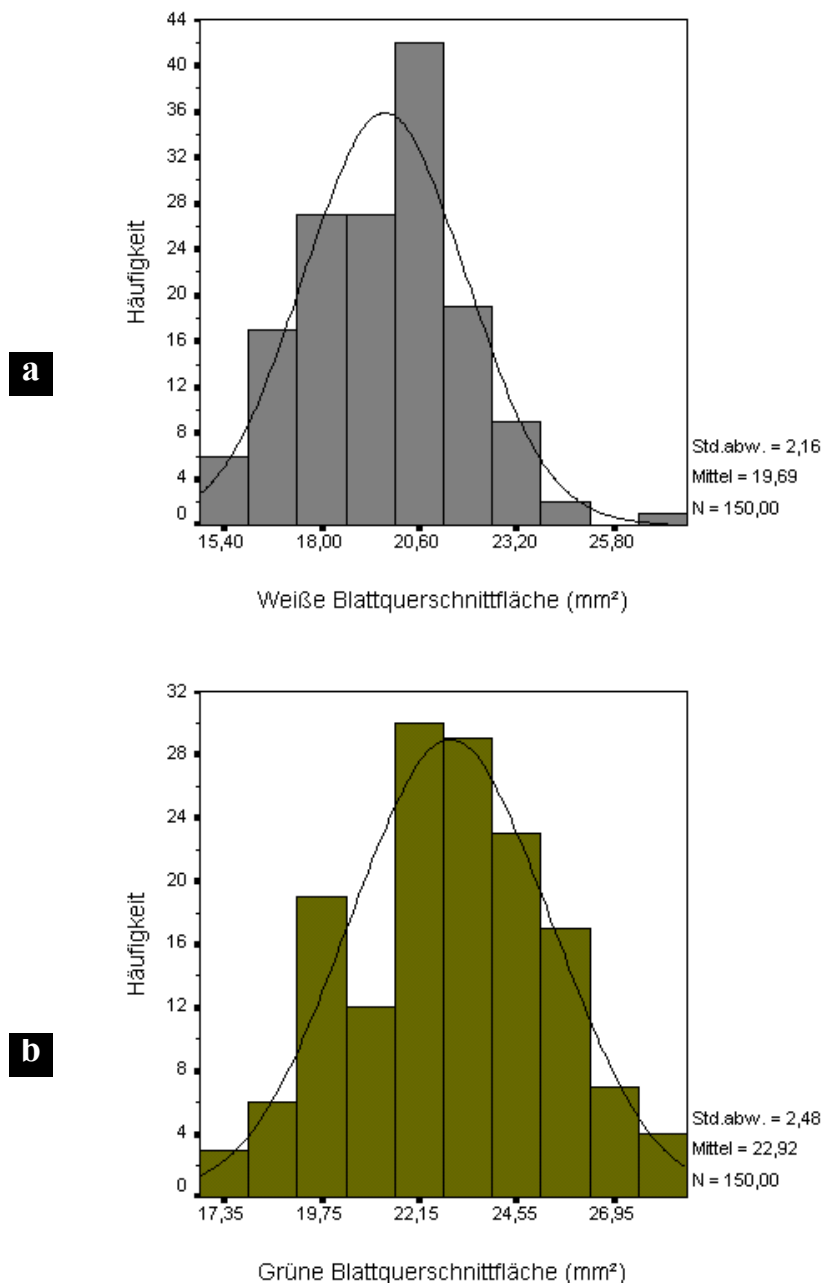


Abb. 20: Darstellungen der Häufigkeitsverteilung der verschiedenen Anteile der Blattquerschnittfläche der Weißrandform von *Sedum rubrotinctum*. (a) Blattquerschnittfläche des weißen Blattrandes. (b) Blattquerschnittfläche des grünen Binnenfeldes.

Bei den Weißrandblättern (Abb. 20a) haben 42 der untersuchten 150 Blätter genau 20,60 mm² weiße Blattquerschnittfläche (häufigster Zählwert in der Stichprobe), das entspricht 48% der Stichprobe. Die nächstgrößeren Häufigkeiten sind bei Blattmesophylloberflächen von 18,00 und 19,30 mm² zu vermerken. Nur 6 Blätter besitzen eine Blattquerschnittfläche bis maximal 16,05 mm² (4%). Mehr als 23,85 mm² Blattquerschnittfläche wurden bei 3 Blättern (2%) gemessen.

Die untere Grafik der Abbildung 20 macht deutlich, dass bei den grünen Blattquerschnittflächen die Klassen 22,15 und 23,35 mm² am stärksten besetzt sind, das entspricht 39,3% der Stichprobe. Fast 87% der gemessenen Blätter haben eine grüne Blattquerschnittfläche zwischen 19,15 und

26,65 mm². Nur 9 Blätter haben eine Blattquerschnittsfläche bis maximal 19,15 mm² (entspricht 6%). Mehr als 26,65 mm² wurden bei 11 Blättern (7,3%) ermittelt.

3.3.1.2 Vergleich der gesamten Blattquerschnittsflächen

Die Aufgabe war es festzustellen, ob zwischen den Mittelwerten der gesamten Blattquerschnittsflächen aller Varianten Unterschiede bestehen, d.h., ob die genetische Konstitution eine unterschiedliche Wirkung auf das Ausmaß der Blattquerschnittsfläche der Pflanzen hat. Für die Aufstellung der Nullhypothese, d.h. hier die Annahme, die drei verschiedenen genetischen Konstitutionen seien in ihrer Wirkung auf die Blattquerschnittsfläche gleichwertig, dürfte die Streuung zwischen den gesamten Blattquerschnittsflächen nicht wesentlich größer sein als die innerhalb der gesamten Blattquerschnittsflächen. Die statistische einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) in SPSS (SPSS INC., 2000) wurde verwendet. Die statistische Analyse von Messdaten in Form von Tabellen, Grafiken und statistischen Maßzahlen wurde dargestellt. Die hier aufgeführten Mittelwertvergleiche setzen voraus, dass die untersuchten Merkmale zumindestens annähernd normalverteilt sind.

Tab. 4: Test der Homogenität der Varianzen für die gesamte Blattquerschnittsfläche der drei Varianten von *Sedum rubrotinctum*

Levene-Statistik	Freiheitsgrad FG1	Freiheitsgrad FG2	Signifikanz
44,702	2	447	,000

Mit dem Levene-Test bzw. Test der Homogenität der Varianzen lässt sich überprüfen, ob die Varianz in jeder Prüffaktor-Stufe gleich groß ist. Da eine Voraussetzung überprüft wird, beträgt der Tafelwert $\alpha_T = 0,10$. Da $\alpha_R(\text{Prüfzahl}) = 0,000 < \alpha_T$ ist, wird angenommen, dass Varianzhomogenität vorliegt. Der F-Test ist durchführbar.

Tab. 5: Varianztabelle der gesamten Blattquerschnittsflächen genetisch unterschiedlicher Blätter von *Sedum rubrotinctum*

Variationsursache	Summe der Abweichungsquadrate SQ	Freiheitsgrad FG	Mittleres Abweichungsquadrat MQ	F-Prüfzahl F	Signifikanz
Zwischen den Blattmustern	7884,562	2	3942,281	312,271	,000
Innerhalb der Blattmuster	5643,168	447	12,625		
Gesamt	13527,730	449			

Unter Voraussetzung der Nullhypothese sind MQ (mittleres Abweichungsquadrat) zwischen den Blattmustern und MQ innerhalb der Blattmuster Schätzungen von Varianzen der Grundgesamtheit.

Man kann beide mit dem F-Test vergleichen, d.h. die Versuchsfrage „Bestehen Blattquerschnittsflächenunterschiede zwischen den Blattmustern“ wird mit einem F-Test beantwortet. Diese F-

Prüfzahl (F_P) wird mit dem Tafelwert $F(2, 447; 0,95)$ verglichen. Da für $\alpha = 0,05$ $F_P > F(2, 447, 0,95) = 3,016$ ist, wird die Nullhypothese abgelehnt. Zwischen den Blattmustern bestehen nicht nur zufällige gesamte Blattquerschnittflächenunterschiede, sondern die histogenetischen Konstitutionen wirken sich auf das Ausmaß des Blattmesophylls aus. Wie sie sich im einzelnen auswirken, d.h., zwischen welchen Gruppendurchschnitten konkret signifikante Differenzen vorhanden sind, kann mit dem multiplen Mittelwertvergleich geprüft werden. Es soll der multiple t-Test zur Anwendung kommen. Die Präzision des Versuches ($S_R\% = 7,8\%$) ist kleiner als 10%, damit recht gut.

Tab. 6: T-Test der gesamten Blattquerschnittflächen genetisch unterschiedlicher Blätter von *Sedum rubrotinctum*

LSD

(I) Blattmuster	(J) Blattmuster	Mittlere Differenz (I-J)	Standardfehler	Sig.	95%-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
Grüne Blätter	Weißkernige Blätter	8,6699*	,4103	,000	7,8636	9,4762
	Weißrandige Blätter	9,0752*	,4103	,000	8,2689	9,8815
Weißkernige Blätter	Grüne Blätter	-8,6699*	,4103	,000	-9,4762	-7,8636
	Weißrandige Blätter	,4053	,4103	,324	-,4010	1,2116
Weißrandige Blätter	Grüne Blätter	-9,0752*	,4103	,000	-9,8815	-8,2689
	Weißkernige Blätter	-,4053	,4103	,324	-1,2116	,4010

*. Die mittlere Differenz ist auf der Stufe 0,05 signifikant.

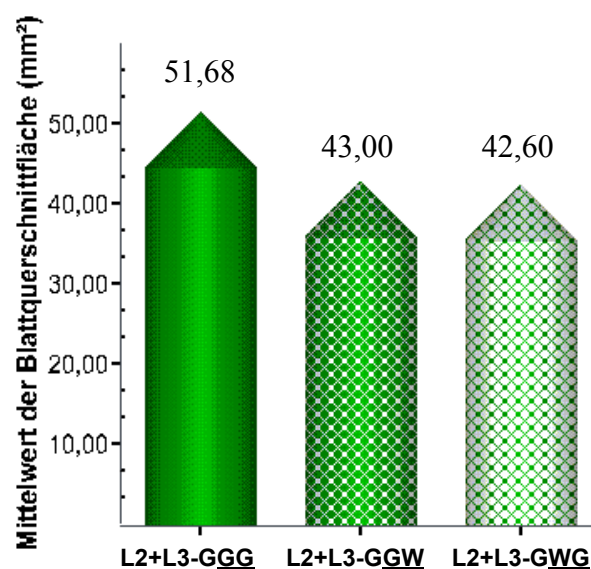


Abb. 21: Vergleich der Mittelwerte der gesamten Blattquerschnittflächen genetisch unterschiedlicher Blätter von *Sedum rubrotinctum* (Daten aus Tab. 1, 2 und 3).

Der t-Test ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen den gesamten Blattquerschnittflächen der Weißkern- und Weißrandform, zeigte aber gesicherte Unterschiede zwischen den Blattquerschnittflächen der normalen grünen und der chimärischen Formen (siehe Abb. 21).

3.3.1.3 Vergleich der Blattquerschnittflächen L2-bürtiger Blattränder

Es ist zu prüfen, ob die Varianz für die Blattquerschnittfläche des L2-bürtigen Blattrandes für zwei genetisch unterschiedliche Blattmuster gleich ist. Die statistische Analyse wurde mit dem t-Test bei unabhängigen Stichproben in SPSS durchgeführt.

Tab. 7: Vergleich der Mittelwerte zweier Blattquerschnittflächen L2-bürtiger Blattränder von *Sedum rubrotinctum*

		Levene-Test der Varianzgleichheit		t-Test für die Mittelwertgleichheit						
		F	Sig.	T	df	Sig. (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standardfehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
									Untere	Obere
Blattquerschnittfläche des L2-bürtigen Blattrandes (mm ²)	Varianzen sind gleich	1,440	,231	19,932	298	,000	5,1864	,2602	4,6743	5,6985
	Varianzen sind nicht gleich			19,932	296,2	,000	5,1864	,2602	4,6743	5,6985

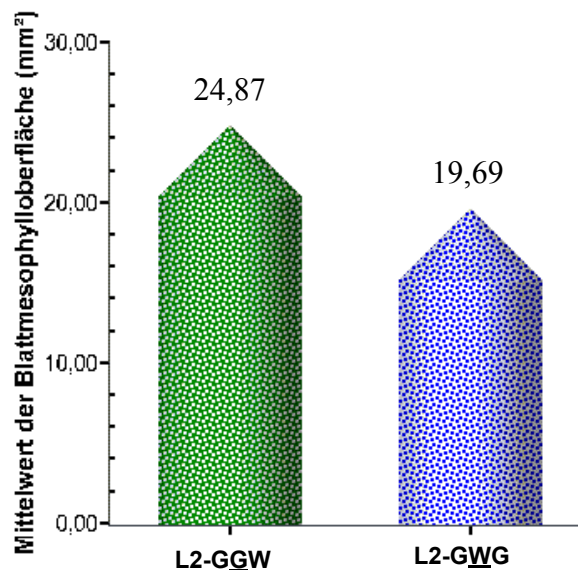


Abb. 22: Vergleich der Blattquerschnittfläche des L2-bürtigen Blattrandes verschiedener Blattmuster von *Sedum rubrotinctum* (Daten aus Tab. 2 und 3).

Der Levene-Test (Tab. 7) ergab ein Signifikanzniveau von 0,231. Dieser Wert ist größer als die vorgegebene Irrtumswahrscheinlichkeit $\alpha_1 = 0,10$. Das bedeutet, dass eine Varianzgleichheit vorliegt. Somit ist der t-Test für gleiche Varianzen zu verwenden. Für diesen t-Test ist die zweiseitige Irrtumswahrscheinlichkeit ($\alpha_{2R} = 0,000$) kleiner als 0,05. Es besteht ein signifikanter Unterschied in der Blattquerschnittfläche des L2-bürtigen Blattrandes weißkerniger und weißrandiger Blätter von *Sedum rubrotinctum*, d.h. die Fläche L2-bürtiger grüner Blattränder ist signifikant größer als die weißer (siehe Abb.22).

3.3.1.4 Vergleich der Blattquerschnittflächen L3-bürtiger Binnenfelder

Tab. 8: Vergleich der Mittelwerte zweier Blattquerschnittflächen L3-bürtiger Binnenfelder von *Sedum rubrotinctum*

		Levene-Test der Varianzgleichheit		t-Test für die Mittelwertgleichheit						
		F	Sig.	T	df	Sig. (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standardfehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
									Untere	Obere
Blattquerschnittfläche des L3-bürtigen Binnenfeldes (mm ²)	Varianzen sind gleich	11,947	,001	19,444	298	,000	4,7885	,2463	4,3038	5,2731
	Varianzen sind nicht gleich			19,444	265,698	,000	4,7885	,2463	4,3036	5,2734

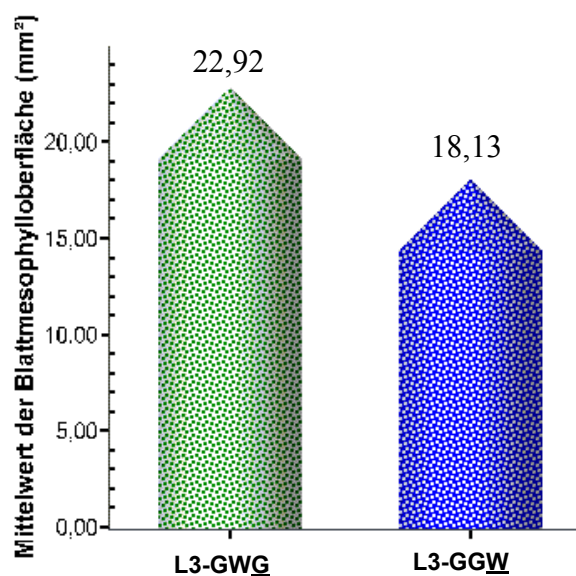


Abb. 23: Vergleich der Blattquerschnittfläche des L3-bürtigen Binnenfeldes verschiedener Blattmuster von *Sedum rubrotinctum* (Daten aus Tab. 2 und 3).

Es soll die mittlere Blattquerschnittfläche des L3-bürtigen Binnenfeldes der weißkernigen und weißrandigen Blätter verglichen werden. Der Levene-Test ergab ein Signifikanzniveau von 0,001. Dieser Wert ist kleiner als die vorgegebene Irrtumswahrscheinlichkeit $\alpha_T = 0,10$, die Varianzgleichheit muss daher abgelehnt werden. Somit ist der Welch-Test für ungleiche Varianzen zu verwenden. Im t-Test wird die Varianzgleichheit nochmal abgelehnt, weil die zweiseitige Irrtumswahrscheinlichkeit ($\alpha_{2R} = 0,000$) kleiner als 0,05 ist. Es besteht ein signifikanter Unterschied in der Blattquerschnittfläche des L3-bürtigen Binnenfeldes weißkerniger und weißrandiger Blätter von *Sedum rubrotinctum* (Tab. 8), d.h. die Fläche L3-bürtiger grüner Binnenfelder ist signifikant größer als die weißer (siehe Abb.23). Die Abbildung 24 zeigt einen Vergleich der Mittelwerte der Blattquerschnittfläche genetisch unterschiedlicher Blätter mit ihren Anteilen. Zusammenfassend stellt man die Prävalenz der genetisch grünen Gewebe fest.

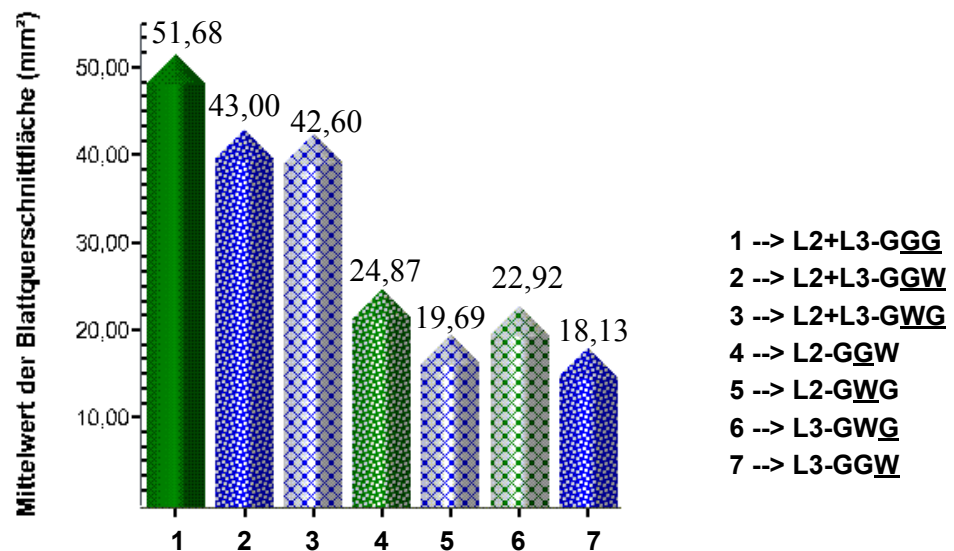


Abb. 24: Vergleich der Mittelwerte der Blattquerschnittfläche genetisch unterschiedlicher Blätter und Blattanteile von *Sedum rubrotinctum*. Die grünen Gewebe überwiegen (Daten aus Tab. 1, 2 und 3).

3.3.2 *Pedilanthus tithymaloides*

Die quantitative Analyse der Beteiligung genetisch verschiedener Sprossscheitelschichten an der Bildung des Blattmesophylls wird durch den Vergleich der Querschnittshöhe des Blattmesophylls (Blattmesophyllhöhe) durchgeführt. Für den Vergleich werden anhand von Querschnitten des Blattrandes und Binnenfeldes Messungen des Mesophylls vorgenommen.

Die Statistiktabelle (Tab. 9) zeigt die Mittelwerte, die Standardabweichungen und die Standardfehler der Mittelwerte der Mesophyllhöhen bei verschiedenen Blattanteilen.

Tab. 9: Beschreibende Statistik der Mittelwerte der Blattmesophyllhöhen genetisch verschiedener Blattanteile von *Pedilanthus tithymaloides*

	Mittelwert	N	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Blattmesophyllhöhe im grünen Blattrand der GGW-Chimäre (µm)	408,1	30	9,4969	1,7339
Blattmesophyllhöhe im weißen Blattrand der GGW-Chimäre (µm)	385,4	30	8,2624	1,5085
Blattmesophyllhöhe im grünen Binnenfeld der GGW-Chimäre (µm)	605,1	30	12,4354	2,2704
Blattmesophyllhöhe im weißen Binnenfeld der GGW-Chimäre (µm)	516,1	30	10,6310	1,9409

3.3.2.1 Vergleich der Blattmesophyllhöhe genetisch verschiedener L2-bürtiger Blattränder

Die Darstellung von Messdaten als Grafiken und statistische Maßzahlen wurde durchgeführt. Es sollen Blattmesophyllhöhen zweier genetisch verschiedener, L2-bürtiger Blattränder verglichen werden. Die statistische Analyse wurde mit dem t-Test bei unabhängigen Stichproben in SPSS durchgeführt.

Tab. 10: Vergleich der Mittelwerte zweier Blattmesophyllhöhen L2-bürtiger Blattränder von *Pedilanthus tithymaloides*

		Levene-Test der Varianzgleichheit		t-Test für die Mittelwertgleichheit						
		F	Signifikanz	T	df	Sig. (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standardfehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
									Untere	Obere
Blattmesophyllhöhe des L2-bürtigen Blattrandes (µm)	Varianzen sind gleich	1,6	,209	9,893	58	,000	22,7360	2,2982	18,136	27,34
	Varianzen sind nicht gleich			9,893	56,911	,000	22,7360	2,2982	18,134	27,34

Signifikanzniveau des Levene-Tests in Tabelle 9 ist $\alpha_k = 0,209$ und damit größer als die vorgegebene Irrtumswahrscheinlichkeit $\alpha_r = 0,10$. Folglich wird die Nullhypothese der Varianzgleichheit der Blattmesophyllhöhen in beiden Blattmusteranteilen angenommen. Somit ist der t-Test für gleiche Varianzen zu verwenden. Für diesen t-Test ist die zweiseitige Irrtumswahrscheinlichkeit ($\alpha_{2R} = 0,000$) kleiner als 0,05. Es besteht ein signifikanter Unterschied in der Mesophyllhöhe des L2-bürtigen Blattrandes weißkerniger und weißrandiger Blätter von *Pedilanthus tithymaloides*, d.h. die Querschnittshöhe des Blattmesophylls L2-bürtiger grüner Blattränder ist signifikant größer als die weißer (siehe Abb.25).

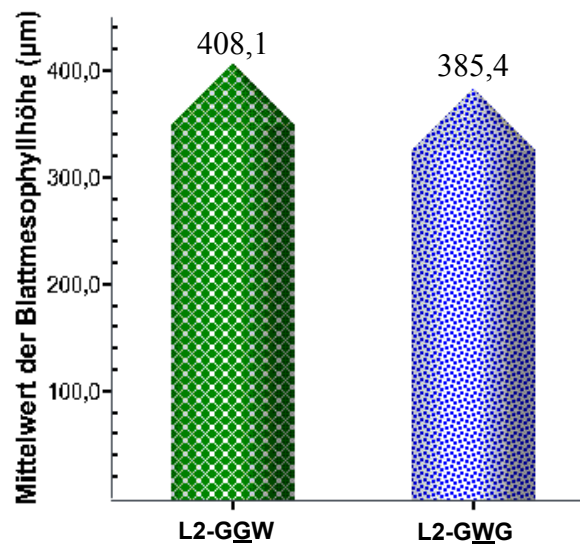


Abb. 25: Vergleich der Mesophyllhöhe des L2-bürtigen Blattrandes verschiedener Blattmuster von *Pedilanthus tithymaloides* (Daten in Tab. 9).

3.3.2.2 Vergleich der Blattmesophyllhöhe genetisch verschiedener L3-bürtiger Binnenfelder

Es soll festgestellt werden, ob zwischen der Blattmesophyllhöhe bei grünen und weißen L3-bürtigen Binnenfelder ein Unterschied besteht. Die Tabelle 11 zeigt die statistische Auswertung.

Tab. 11: Vergleich der Mittelwerte zweier Blattmesophyllhöhen L3-bürtiger Binnenfelder von *Pedilanthus tithymaloides*

		Levene-Test der Varianzgleichheit		t-Test für die Mittelwertgleichheit						
		F	Signifikanz	T	df	Sig. (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standardfehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
									Untere	Obere
Blattmesophyllhöhe des L3-bürtigen Binnenfeldes (μm)	Varianzen sind gleich	2,8	,103	29,791	58	,000	88,9840	2,9870	83,005	94,96
	Varianzen sind nicht gleich			29,791	56,631	,000	88,9840	2,9870	83,002	94,97

Da $\alpha_R(0,103) > \alpha_T(0,100)$, ist die Varianzgleichheit der Blattmesophyllhöhe zwischen grünen und weißen Binnenfelder eindeutig. Somit ist der t-Test für gleiche Varianzen zu verwenden.

Mit Hilfe des t-Tests erweist sich der Unterschied in der Blattmesophyllhöhe zwischen grünen und weißen Binnenfelder signifikant, weil die zweiseitige Irrtumswahrscheinlichkeit ($\alpha_{2R} = 0,000$) kleiner als 0,05 ist (Abb. 26).

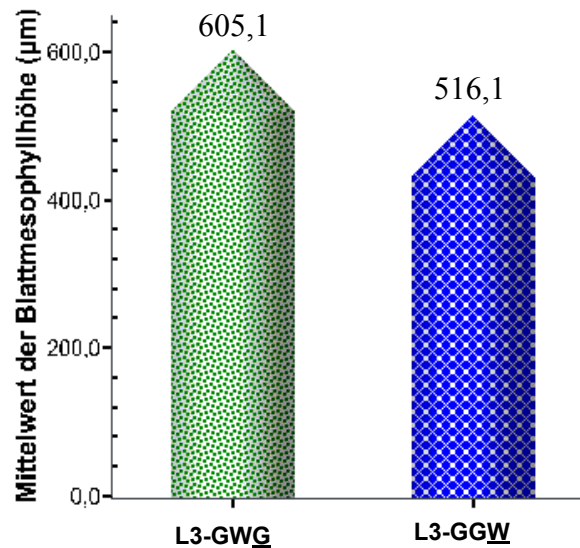


Abb. 26: Vergleich der Mesophyllhöhe des L3-bürtigen Binnenfeldes verschiedener Blattmuster von *Pedilanthus tithymaloides* (Daten in Tab. 9).

Die Mittelwertgrafik der Blattmesophyllhöhe gestattet die Bekräftigung der Aussagen über signifikante Unterschiede zwischen grünen und weißen Blattanteilen (Abb. 27).

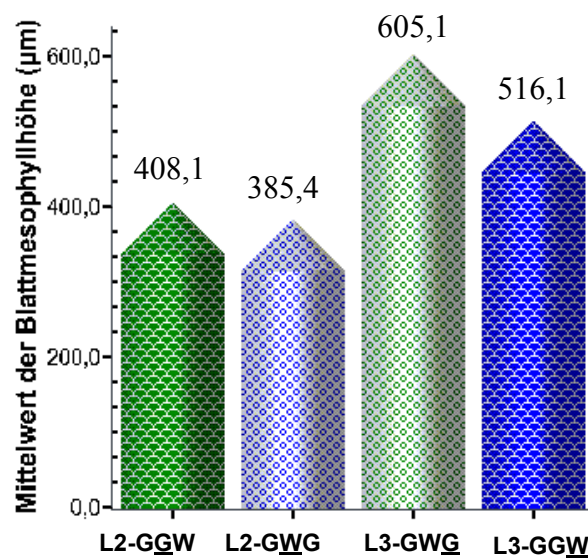


Abb. 27: Vergleich der Mittelwerte der Blattmesophyllhöhe genetisch unterschiedlicher Blattanteile von *Pedilanthus tithymaloides*. Grünes Gewebe überwiegt sowohl in L2- als auch in L3-bürtigem Gewebe (Daten aus Tab. 9).

3.3.3 *Peperomia serpens*

Mit dieser Untersuchung war die Frage zu prüfen, ob die genetisch verschiedenen Blattanteile im Vergleich einen Unterschied der Blattmesophyllhöhe (gemessen im Querschnitt) zeigen.

Die Statistiktafel (Tab. 12) zeigt die Mittelwerte, die Standardabweichungen und die Standardfehler der Mittelwerte der Mesophyllhöhen bei verschiedenen Blattanteilen.

Tab. 12: Beschreibende Statistik der Mittelwerte der Blattmesophyllhöhen genetisch verschiedener Blattanteile von *Peperomia serpens*

	Mittelwert	N	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Blattmesophyllhöhe im grünen Blattrand der GGW-Chimäre (µm)	511,9	30	6,2362	1,1386
Blattmesophyllhöhe im weißen Blattrand der GGW-Chimäre (µm)	387,3	30	13,6146	2,4857
Blattmesophyllhöhe im grünen Binnenfeld der GGW-Chimäre (µm)	622,9	30	11,3696	2,0758
Blattmesophyllhöhe im weißen Binnenfeld der GGW-Chimäre (µm)	572,2	30	5,2748	,9631

3.3.3.1 Vergleich der Blattmesophyllhöhe genetisch verschiedener L2-bürtiger Blattränder

Da der errechnete α -Wert von 0,000 kleiner als der vorgegebene Wert ($\alpha_T=0,100$) ist, wird Varianzgleichheit abgelehnt. Infolgedessen ist der t-Test für ungleiche Varianzen zu verwenden. Für den Vergleich der Mittelwerte ist die zweiseitige Irrtumswahrscheinlichkeit $\alpha_R=0,000$ kleiner als $\alpha_T=0,05$ (Tab. 13). Das bedeutet, dass die Mittelwertgleichheit abzulehnen ist. Es besteht ein signifikanter Unterschied in der Blattmesophyllhöhe grüner und weißer Blattränder. Die Blattmesophyllhöhe im grünen Blattrand ist somit signifikant größer als die im weißen Blattrand (siehe Abb. 28).

Tab. 13: Vergleich der Mittelwerte zweier Blattmesophyllhöhen L2-bürtiger Blattränder von *Peperomia serpens*

		Levene-Test der Varianzgleichheit		t-Test für die Mittelwertgleichheit						
		F	Signifikanz	T	df	Sig. (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standardfehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
									Untere	Obere
Blattmesophyllhöhe des L2-bürtigen Blattrandes (µm)	Varianzen sind gleich	16,7	,000	45,556	58	,000	124,5513	2,7340	119,08	130,0
	Varianzen sind nicht gleich			45,556	40,656	,000	124,5513	2,7340	119,03	130,1

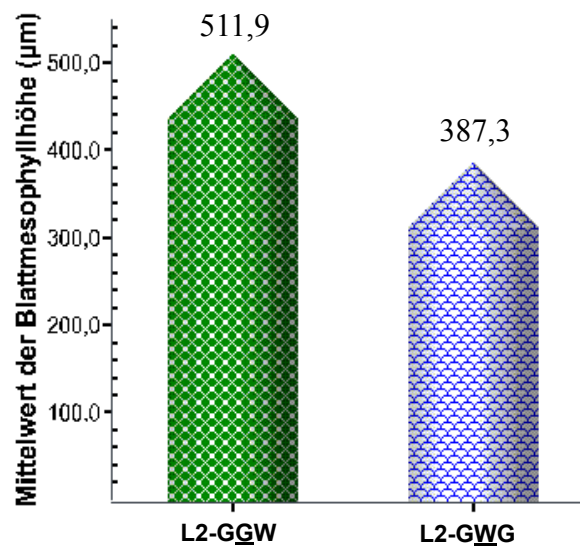


Abb. 28: Vergleich der Mesophyllhöhe des L2-bürtigen Blattrandes verschiedener Blattmuster von *Peperomia serpens* (Daten in Tab. 12).

3.3.3.2 Vergleich der Blattmesophyllhöhe genetisch verschiedener L3-bürtiger Binnenfelder

Es ist zu untersuchen, ob die genetisch unterschiedlichen Sprossscheitelschichten einen Einfluss auf die Blattmesophyllhöhe der zwei verschiedenen, L3-bürtigen Binnenfelder haben.

Der Levene-Test hat ein Signifikanzniveau von 0,000 ergeben. Dieser Wert ist kleiner als die vorgegebene Irrtumswahrscheinlichkeit α_T von 0,10, die Varianzgleichheit muss daher abgelehnt werden. Somit ist der t-Test für ungleiche Varianzen (Welch-Test) zu verwenden. Für den Vergleich der Mittelwerte ist die zweiseitige Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner als 0,05 (Tab. 14). Das bedeutet, dass die Mittelwertgleichheit abzulehnen ist. Es besteht ein signifikanter Unterschied in der Querschnittshöhe des Mesophylls grüner und weißer Blattanteile bei *Peperomia serpens* (Abb 29).

Tab. 14: Vergleich der Mittelwerte zweier Blattmesophyllhöhen L3-bürtiger Binnenfelder von *Peperomia serpens*

		Levene-Test der Varianzgleichheit		t-Test für die Mittelwertgleichheit						
		F	Signifikanz	T	df	Sig. (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standardfehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
									Untere	Obere
Blattmesophyllhöhe des L2-bürtigen Blattrandes (μm)	Varianzen sind gleich	13,8	,000	22,195	58	,000	50,7900	2,2883	46,2094	55,37
	Varianzen sind nicht gleich			22,195	40,931	,000	50,7900	2,2883	46,1684	55,41

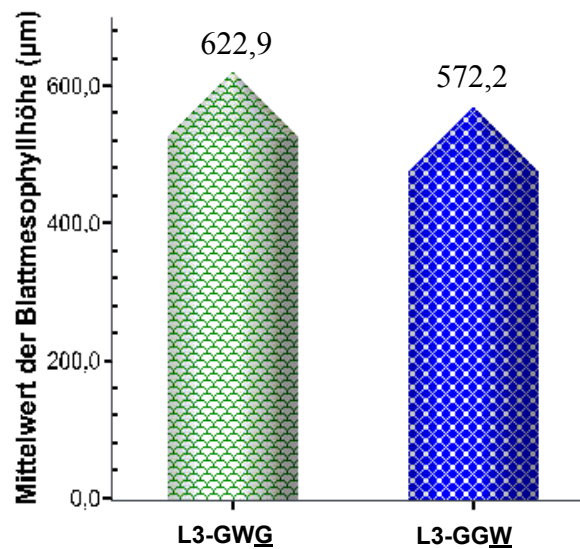


Abb. 29: Vergleich der Mesophyllhöhe des L3-bürtigen Binnenfeldes verschiedener Blattmuster von *Peperomia serpens* (Daten in Tab. 12).

Wie aus der Tabelle 12 ersichtlich ist, treten nicht nur zwischen den Blattmesophyllhöhen der Anteile verschiedener Blattmuster, sondern auch zwischen den Blattanteilen eines Blattmusters Unterschiede auf. Abbildung 30 dient der Veranschaulichung des Konkurrenzverhaltens genetisch verschiedener Gewebe.

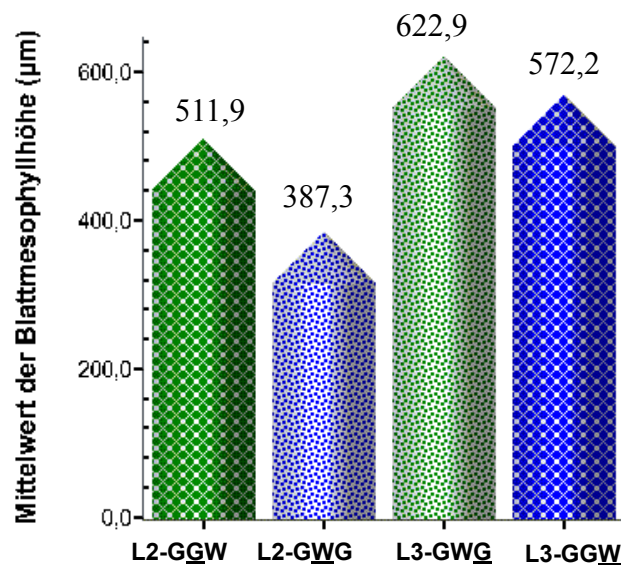


Abb. 30: Vergleich der Mittelwerte der Blattmesophyllhöhe genetisch unterschiedlicher Blattanteile von *Peperomia serpens*. Grünes Gewebe überwiegt sowohl in L2- als auch in L3-bürtigem Gewebe (Daten aus Tab. 12).

3.4 Untersuchungen zur Adventivsprossregeneration

Bei genauer Kenntnis der Zellteilungsfolgen, die während der ontogenetischen Entwicklung eines bestimmten Objektes ablaufen, kann man sich die aus den Berechnungen bzw. Modellversuchen ergebenden Zahlwerte mit den festgestellten Entmischungsmustern in Verbindung bringen und dadurch Rückschlüsse auf die Anzahl und die Merkmale der Sprossscheitelschichten ziehen.

3.4.1 In-vivo-Adventivsprossregeneration bei *Peperomia serpens*

Die in den folgenden Abbildungen (Abb. 31, 32) und der Tabelle (Tab. 15) dokumentierten Ergebnisse der In-vivo-Blattregenerationsversuche bestätigen durch die Entmischung der Gewebe das Vorliegen von Chimären. Ebenso wie die fünf Versuchsvarianten der Weißrandform ließen sich auch die fünf Versuchsvarianten der Weißkernform in die entsprechenden weißen und grünen Komponenten zerlegen. Im Laufe der Regeneration wurden die beiden verschiedenen Gewebetypen in jedem Blattmuster auf verschiedene Adventivsprosse verteilt, d.h. das in der Ausgangspflanze enthaltene Gemisch von genetisch verschiedenen Geweben wurde entmischt. Es entstanden rein grüne oder rein weiße Sprosse (Abb 31). Nur in Einzelfällen, auf die noch an späterer Stelle eingegangen wird, kam es zur Bildung wiederum variegater Sprosse (Abb. 32).

Tab. 15: Adventivsprossregeneration an isolierten Blättern oder Blattexplantaten von *Peperomia serpens*

		Zahl der Blattexplantate	Blattregenerate			
			insgesamt	grün	weiß	variegat
Weißkernform, Scheitelkonstitution ‚Grün-Grün-Weiß‘						
Distale Blattspreite	Stück	279	250	209	41	0
	%	100,00	89,60	83,60	16,40	0,00
Proximale Blattspreite	Stück	279	266	23	243	0
	%	100,00	95,34	8,65	91,35	0,00
Obere Blatthälfte	Stück	301	270	50	220	0
	%	100,00	89,70	18,52	81,48	0,00
Untere Blatthälfte	Stück	301	294	39	255	0
	%	100,00	97,67	13,27	86,73	0,00
Achselknospenfreier Spross	Stück	426	424	131	289	4 ⁱ
	%	100,00	99,53	30,90	68,16	0,94 ⁱ
Weißrandform, Scheitelkonstitution ‚Grün- Weiß-Grün‘						
Distale Blattspreite	Stück	334	192	26	166	0
	%	100,00	57,49	13,54	86,46	0,00
Proximale Blattspreite	Stück	334	299	284	15	0
	%	100,00	89,52	94,98	5,02	0,00
Obere Blatthälfte	Stück	391	296	281	15	0
	%	100,00	75,7	94,93	5,07	0,00
Untere Blatthälfte	Stück	391	313	298	15	0
	%	100,00	80,05	95,21	4,79	0,00
Achselknospenfreier Spross	Stück	480	466	428	35	3 ⁱⁱ
	%	100,00	97,08	91,85	7,51	0,64 ⁱⁱ

ⁱ Sektoriale Chimäre (Abb. 32a)

ⁱⁱ Sektoriale Chimäre (Abb. 32b)

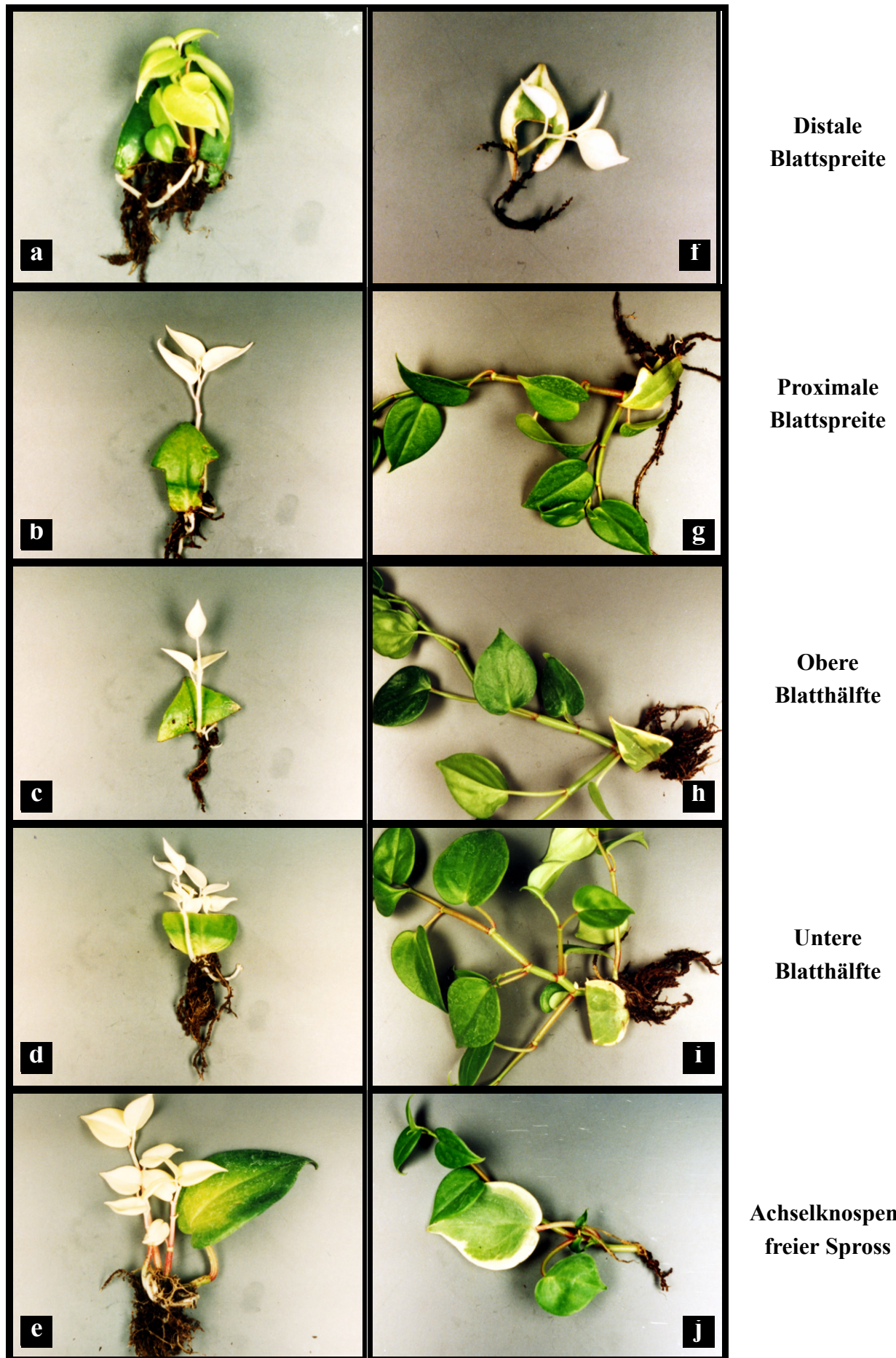


Abb. 31: Adventivsprossregeneration an Blattexplantaten von *Peperomia serpens*. (a bis e) Adventivsprosse der Varianten der Weißkernform. (f bis j) Adventivsprosse der Varianten der Weißrandform.

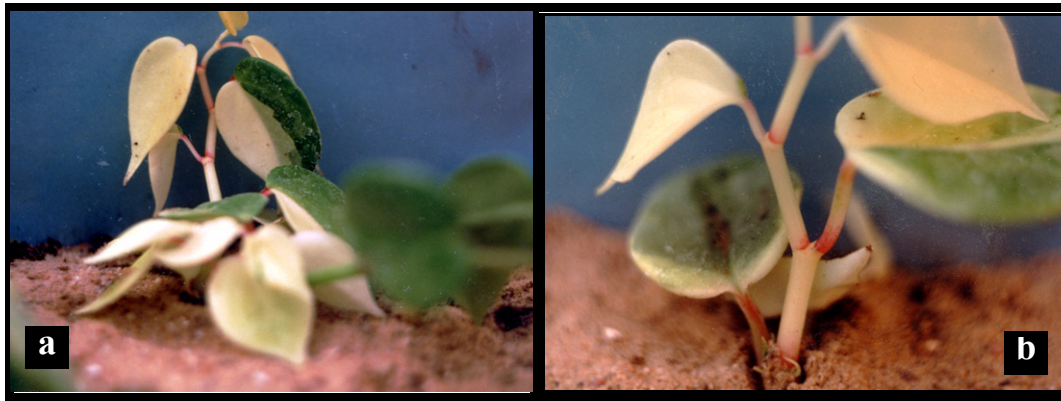


Abb. 32: Adventivsprossregeneration an achselknospenfreien Sprossen von *Peperomia serpens*. (a) Variegated Adventivsprosse der Weißkernform. (b) Variegated Adventivsprosse der Weißrandform.

3.4.1.1 Häufigkeitsanalyse der In-vivo-Adventivsprossregeneration bei der Weißkernform von *Peperomia serpens*

Es interessiert, ob sich die Musterbildung der Sprossregenerate der fünf Versuchsvarianten unterscheidet. Als Prüfverfahren für die Häufigkeitsanalyse der In-vivo-Regeneration dient der χ^2 -Test (Chi-Quadrat-Test) als Anpassungstest bzw. als Test für die 5x3-Kontingenztafel mit der Prüfwahl. Die statistische Analyse wurde mit Hilfe von SPSS (SPSS Inc., 2000) durchgeführt.

Tab. 16: Chi-Quadrat-Test der Adventivsprossregeneration an isolierten Blättern oder Blattexplantaten der Weißkernform von *Peperomia serpens*

	Wert	df	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (1-seitig)	Punkt-Wahrscheinlichkeit
Chi-Quadrat nach Pearson	179,366 ^a	8	,000	,000		
Likelihood-Quotient	177,133	8	,000	,000		
Exakter Test nach Fisher	175,476			,000		
Zusammenhang linear-mit-linear	49,538 ^b	1	,000	,000	,000	,000
Anzahl der gültigen Fälle	500					

a. 5 Zellen (33,3%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 0,20.

b. Die standardisierte Statistik ist 7,038.

Das 0,95-Quantil der Chi-Quadrat-Verteilung für 8 Freiheitsgrade hat den Wert $\chi^2_{1-\alpha} = 15,51$. Die berechnete Prüfgröße $\chi^2_p = 179,366$ liegt im Ablehnungsbereich der Nullhypothese (Tab. 16).

Die Ablehnung der Nullhypothese bedeutet, dass der Unterschied im Regenerationsindex bei mindestens zwei der fünf untersuchten Blattexplantate statistisch signifikant ist. Die Abbildung 33 enthält nicht mehr Informationen als die Tabelle 16, sie gestattet jedoch einen raschen optischen Größenvergleich der Regenerationsindizes (Tab.15).

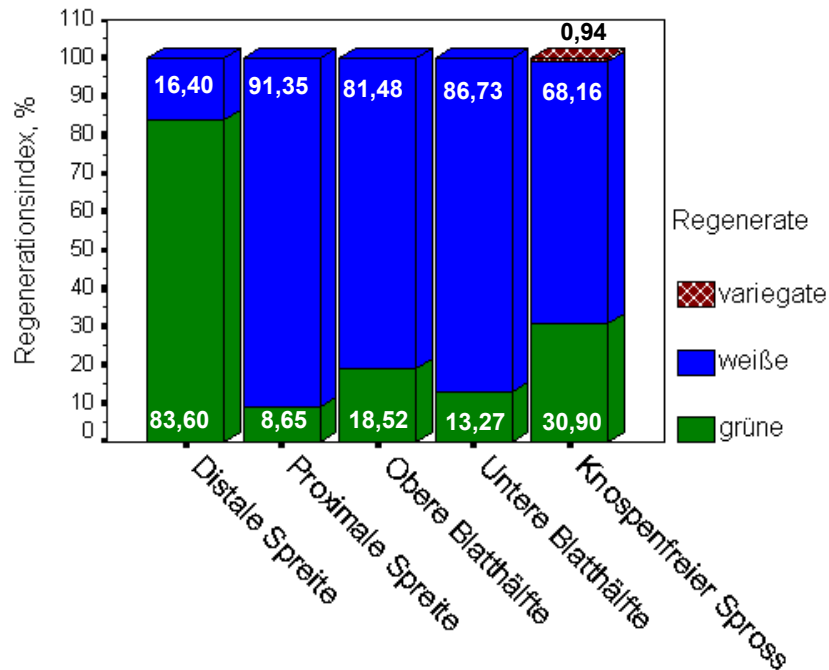


Abb. 33: Grafische Darstellung der In-vivo-Regenerationsindizes der Weißkernform von *Peperomia serpens* (Daten in Tab. 15).

3.4.1.2 Häufigkeitsanalyse der In-vivo-Adventivsprossregeneration bei der Weißbrandform von *Peperomia serpens*

Es ist hier ebenfalls die Frage zu prüfen, ob bei den Versuchsvarianten der Weißbrandform die gleiche Häufigkeitsverteilung für die Regeneration vorliegt. Die Ergebnisse der Analysen wurden in Tabelle 17 zusammengefasst und in der Abbildung 34 grafisch dargestellt.

Der Chi-Quadrat-Wert nach Pearson in Tabelle 17 ist die Prüfgröße (χ^2_p). Der Tabellenwert $\chi^2_{1-\alpha} = 15,51$ wird von $\chi^2_p = 307,074$ überschritten. Der Vergleich beider Chi-Quadrat-Werte führt zur Ablehnung der Nullhypothese. Das bedeutet, dass ein statistisch signifikanter Unterschied in der Verteilung der Häufigkeiten der Adventivsprossregeneration an isolierten Blättern oder Blattexplantaten vorhanden ist.

Anhand der Ergebnisse der In-vivo-Regeneration wird deutlich, dass die Mehrzahl der Adventivsprosse beider Pflanzenmuster von *Peperomia serpens* die Innenkomponente (L3-bürtiges Gewebe) individualisiert. Eine L1-Beteiligung an der Bildung grüner Adventivsprosse ist nicht auszuschließen, jedoch konnten BERGANN und BERGANN (1982) an den In-vivo-Regenerationsergebnissen mit der Weißbrand- und Weißkernform bei *Peperomia serpens* und *P. obtusifolia* nachweisen, dass die beiden Periklinalchimären an isolierten Blättern und Blattexplantaten in der Mehrzahl zur L3-Komponente entmischen. Ein direkter Nachweis der L1-Bürtigkeit solcher Adventivsprosse bei *P. serpens* wäre mit Hilfe einer Monoektochimäre der Konstitution grün-weiß-weiß von *P. serpens* möglich, entsprechend der, wie sie POHLHEIM (1985) für *P. obtusifolia* zur Verfügung stand.

Tab. 17: Chi-Quadrat-Test der Adventivsprossregeneration an isolierten Blättern oder Blattexplantaten der Weißrandform von *Peperomia serpens*

	Wert	df	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (1-seitig)	Punkt-Wahrscheinlichkeit
Chi-Quadrat nach Pearson	307,074 ^a	8	,000	,000		
Likelihood-Quotient	271,720	8	,000	,000		
Exakter Test nach Fisher	267,526			,000		
Zusammenhang linear-mit-linear	130,908 ^b	1	,000	,000	,000	,000
Anzahl der gültigen Fälle	501					

a. 5 Zellen (33,3%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 0,20.

b. Die standardisierte Statistik ist -11,442.

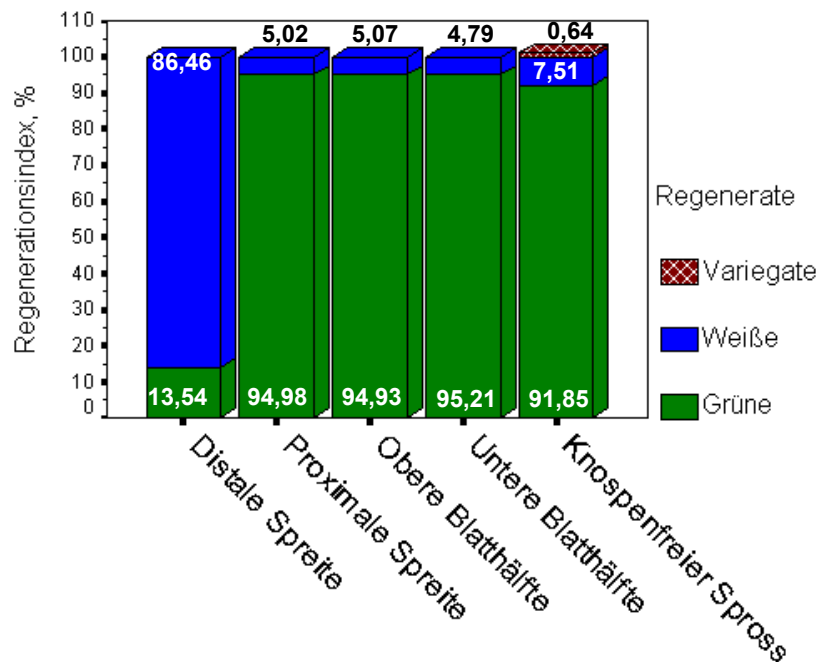


Abb. 34: Grafische Darstellung der In-vivo-Regenerationsindizes der Weißrandform von *Peperomia serpens* (Daten in Tab. 15).

3.4.2 In-vitro-Adventivsprossregeneration bei *Peperomia serpens*

Die Frage nach dem Ursprung von Adventivsprossen stellt sich nicht nur bei vegetativer Vermehrung am isolierten Blatt in vivo, sondern auch dahingehend, ob bei endogener In-vitro-Regeneration an Blattexplantaten von Heterohistonten als Ausgangsmaterial neue chimärische Sprosse entstehen können. Für die Regenerationsversuche wurden Blattrand- und Blattbinnenfeldexplantate der Weißkern- und Weißrandform von *Peperomia serpens* verwendet. Dadurch können Konkurrenzerscheinungen zwischen normalen und mutierten Geweben festgestellt werden. Den Schwerpunkt der Untersuchungen bildete die Weißrandform, da sie an Blattrand- und Binnenfeldexplantaten relativ reichlich regenerierte. Tabelle 18 zeigt die In-vitro-Regenerationsergebnisse.

Tab. 18: In-vitro-Adventivsprossregeneration an isolierten Blattexplantaten von *Peperomia serpens*

		Zahl der Blattexplantate	Blattregenerate			
			insgesamt	grün	weiß	variegate
Weißkernform, Scheitelkonstitution ,Grün-Grün-Weiß'						
Blattrandexplantat	Stück	360	224	224	0	0
	%	100,00	62,22	100,0	0,00	0,00
Binnenfeldexplantat	Stück	360	250	195	55	0
	%	100,00	69,44	78,00	22,00	0,00
Weißrandform, Scheitelkonstitution ,Grün- Weiß-Grün'						
Blattrandexplantat	Stück	360	231	188	43	0
	%	100,00	64,17	81,39	18,61	0,00
Binnenfeldexplantat	Stück	360	272	272	0	0
	%	100,00	75,56	100,00	0,00	0,00

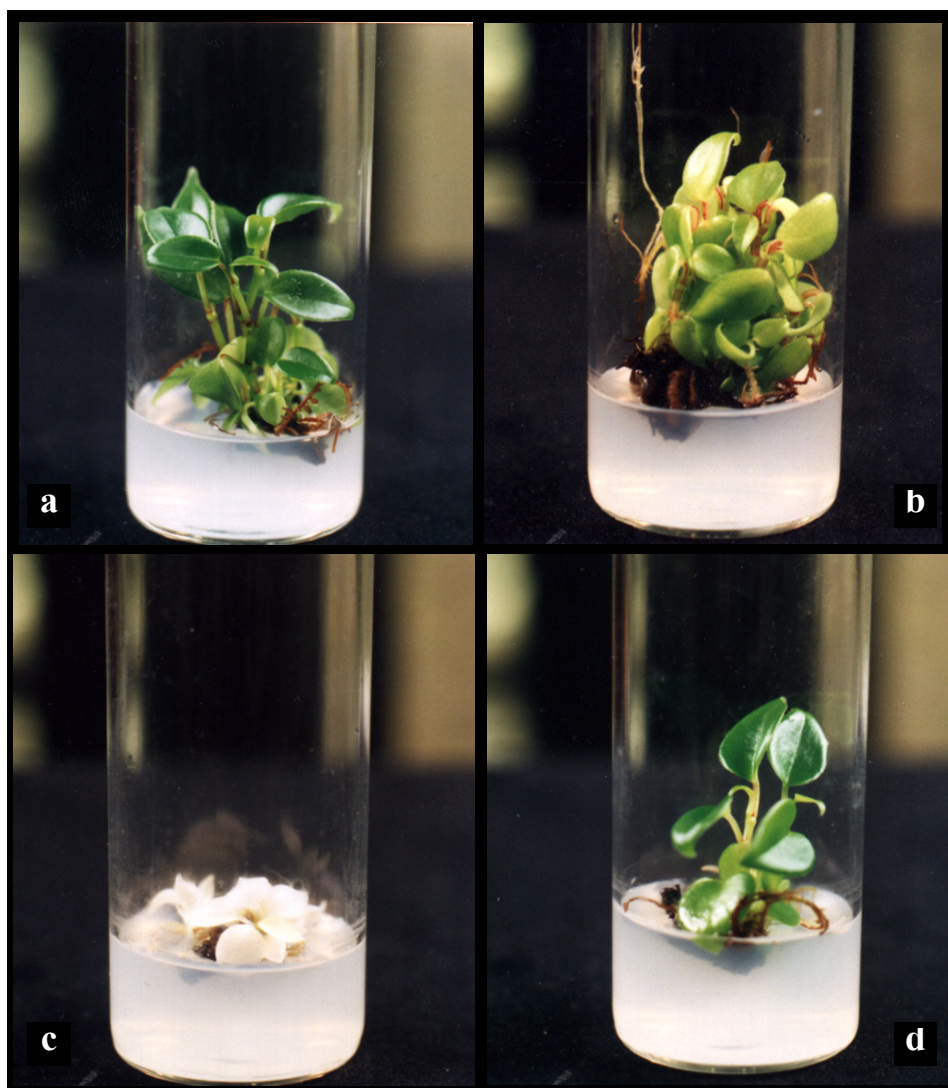


Abb. 35: In-vitro-Adventivsprossregeneration an Blattexplantaten von *Peperomia serpens*. (a,b) Adventivsprosse der Blattrand- und Binnenfeldexplantate der Weißkernform. (c,d) Adventivsprosse der Blattrand- und Binnenfeldexplantate der Weißrandform.

Die Auswertung des In-vitro-Regenerationsversuches bei der chimärischen Weißkern- und Weißrandform von *Peperomia serpens* ergab, dass die meisten Blattexplantate neben zahlreichen homöotisch grünen auch weiße Adventivsprosse bildeten. Heterohistische Adventivsprosse konnten

nicht festgestellt werden. Die Blätter der weißen Adventivsprosse aus Binnenfeldexplantaten der Weißkernform ergrünen mit zunehmendem Alter (Abb. 35 oben b) in gleicher Weise, wie es von der weißen Komponente der Chimären bekannt ist. Die weißen Blätter der Adventivsprosse wurden auf grüne Flecken untersucht, wie sie von einer Monoektochimäre bekannt sind. In keinem Fall konnten Grünsprengel gefunden werden. Grüne Adventivsprosse mit weißen Flecken konnten ebenfalls nicht gefunden werden.

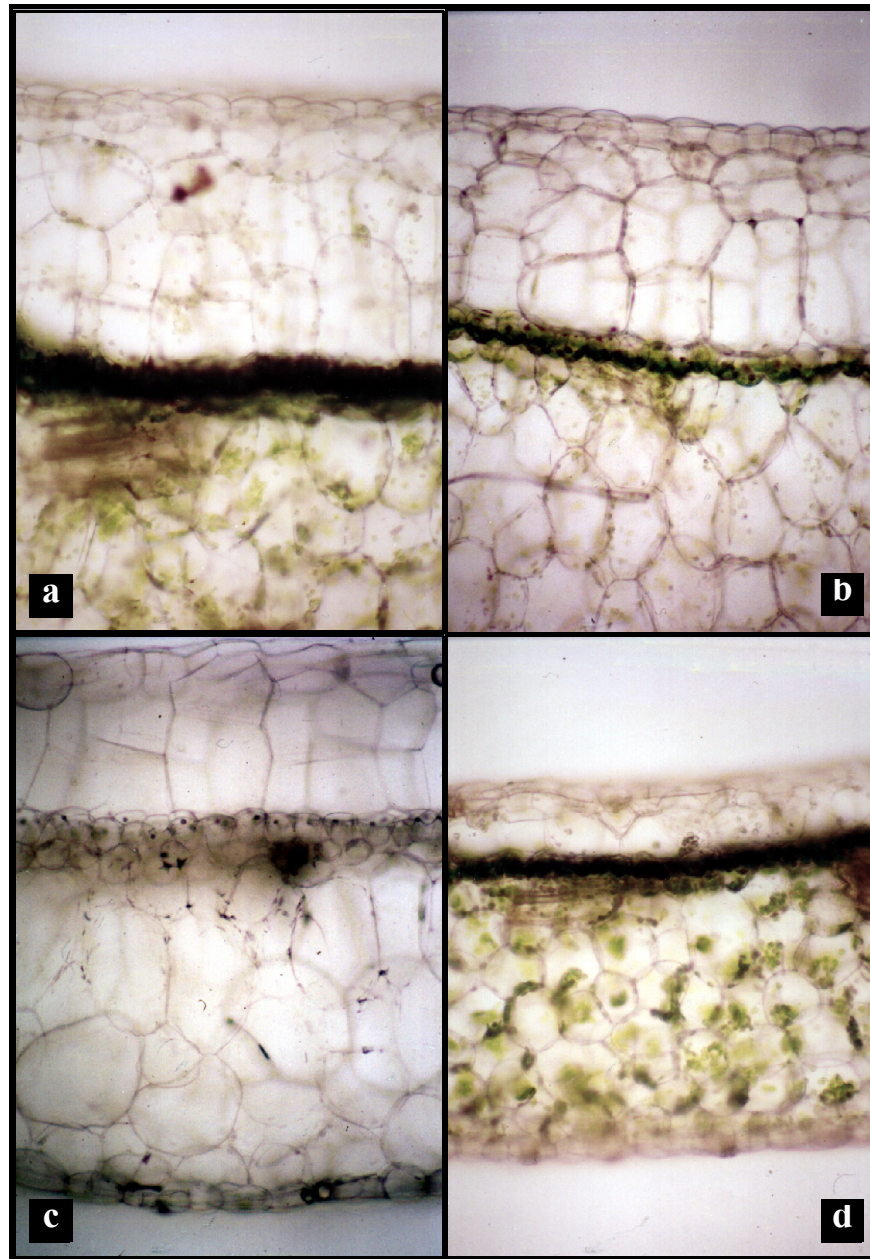


Abb. 36: Querschnitt im Blattmittelfeld homohistischer Adventivsprosse der Periklinalchimären von *Peperomia serpens* bei der In-vitro-Adventivsprossregeneration. (a,b) Blattquerschnitt der grünen und weißen Adventivsprosse der Blattrand- und Binnenfeldexplantate der Weißkernform. (c,d) Blattquerschnitte der weißen und grünen Adventivsprosse der Blattrand- und Binnenfeldexplantate der Weißrandform.

Zur Feststellung der anatomischen Struktur des Blattes der grünen und weißen Regenerate wurden Querschnitte durch die Blattspreitenmitte und Epidermisabzüge angefertigt. Die mikroskopischen Untersuchungen zeigten, dass die grünen und weißen Regenerate grüne bzw. weiße Epidermen

haben. Mit anderen Worten enthalten die Epidermen der grünen Adventivsprosse im Gegensatz zu den Epidermen der weißen Adventivsprossen Chloroplasten (Abb.37). Es wurde hier ebenfalls die Natur des Blattmesophylls der grünen und weißen Regenerate untersucht (Abb.36). Blattmesophyllschichten grüner Adventivsprosse der In-vitro-Regeneration enthalten nur normale Zellen mit grünen Chloroplasten. Die anatomischen Untersuchungen am Blatt weißer Adventivsprosse ergaben, dass alle Mesophyllschichten von chlorophylldefekt farblosem Hypoderm, Schwamm- und Palisadenparenchym ausgebildet worden sind. Davon abgesehen wurde festgestellt, dass das L2-bürtige Palisadenparenchym im Blattquerschnitt des weißen Adventivsprosses der weißen Binnenfeldexplantate teilweise ergrünte Chloroplasten besitzt (Abb. 36b).

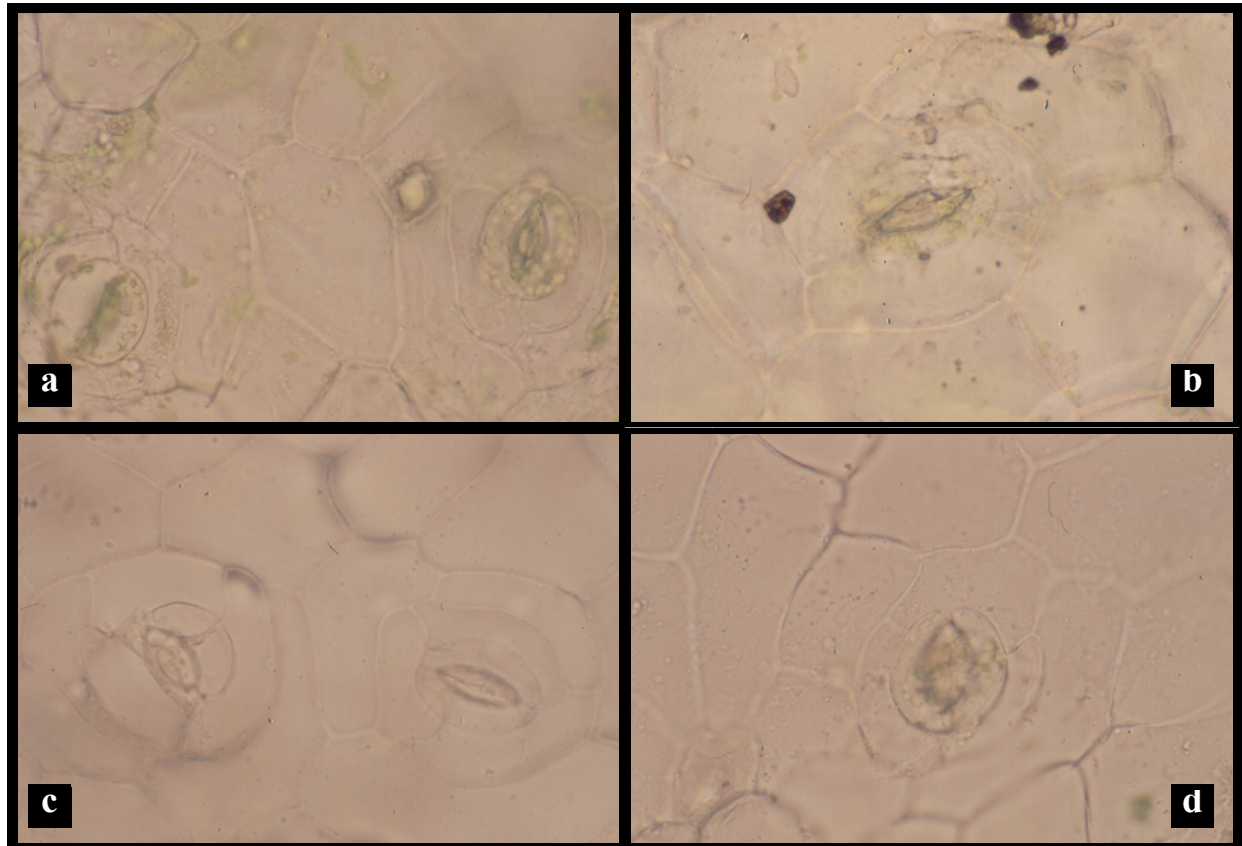


Abb. 37: Stomata der homohistischen Adventivsprosse der Periklinalchimären von *Peperomia serpens* bei der In-vitro-Adventivsprossregeneration. (a,b) Epidermisabzüge der grünen und weißen Adventivsprosse der Blattrand- und Binnenfeldexplantate der Weißkernform. (c,d) Epidermisabzüge der weißen und grünen Adventivsprosse der Blattrand- und Binnenfeldexplantate der Weißrandform.

3.4.2.1 Vergleich der Häufigkeitsverteilungen der In-vitro-Adventivsprossregeneration bei der Weißkernform von *Peperomia serpens*

Die In-vitro-Regeneration von Blättern wurde an zwei Varianten mit genetisch unterschiedlichen Mustern erfasst. Die Ergebnisse zeigten zwei unterschiedliche Adventivsprosstypen, die in verschiedenem Umfang auftraten. Es steht die Frage, ob bei den Blattregenerattypen die gleiche Häufigkeitsverteilung der Regeneration aus den Blattexplantaten vorliegt. Diese Nullhypothese wurde durch den Chi-Quadrat-Test in SPSS (SPSS Inc. 2000) geprüft. Die statistische Analyse wurde in der Tabelle 19 und der Abbildung 38 dargestellt.

Tab. 19: Chi-Quadrat-Test der Adventivsprossregeneration an isolierten Blattexplantaten der Weißkernform von *Peperomia serpens*

	Wert	df	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (1-seitig)	Punkt-Wahrscheinlichkeit
Chi-Quadrat nach Pearson	24,719 ^b	1	,000	,000	,000	,000
Kontinuitätskorrektur ^a	22,523	1	,000			
Likelihood-Quotient	33,225	1	,000	,000	,000	
Exakter Test nach Fisher				,000	,000	
Zusammenhang linear-mit-linear	24,596 ^c	1	,000	,000	,000	
Anzahl der gültigen Fälle	200					

a. Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

b. 0 Zellen (0,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 11,00.

c. Die standardisierte Statistik ist 4,959.

Das 0,95-Quantil der Chi-Quadrat-Verteilung für $df = 1$ Freiheitsgrade (variegated Regenerate sind bei der Rechnung in SPSS ausgeschlossen, weil $df = 1$ ist) hat den Wert 3,841. Für den Chi-Quadrat-Wert nach Pearson ist die berechnete Prüfgröße $\chi^2_p = 24,719$ ohne Kontinuitätskorrektur (wenn Anzahl der gültigen Fälle (n) größer als 100 ist, jedoch nicht alle erwarteten Häufigkeiten unter Gültigkeit der Nullhypothese (e_{ij}) größer als 30 sind, arbeitet man beim Test mit dieser Korrektur). Da $n = 200$ größer als 100 ist, aber e_{ij} der weißen Adventivsprosse kleiner als 30 ist ($e_{ij} = 11,00$), wird die Kontinuitätskorrektur angewendet, d. h. $\chi^2_{pk} = 22,523$ ist die Prüfgröße (Tab. 19). Dieser Wert liegt im Ablehnungsbereich der Nullhypothese. Die zwei Regenerattypen beider Blattexplantate weisen einen signifikanten Unterschied in der Verteilung der In-vitro-Regenerationsvariante auf.

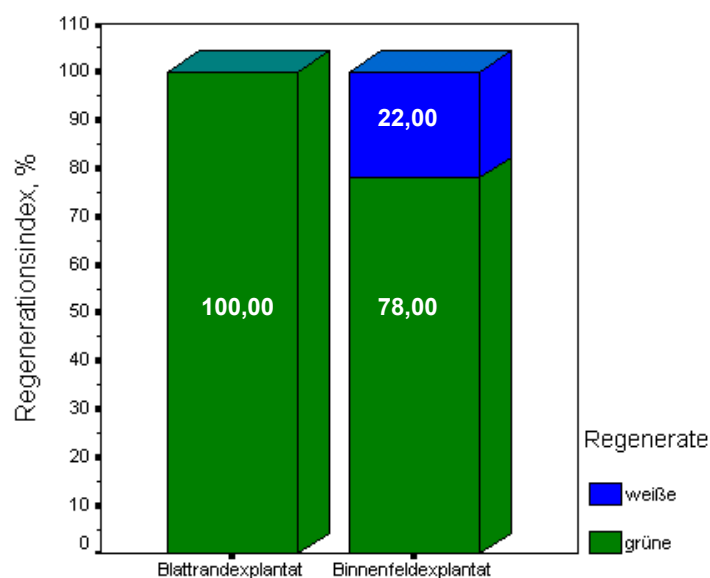


Abb. 38: Grafische Darstellung der In-vitro-Regenerationsindizes der Weißkernform von *Peperomia serpens* (Daten in Tab. 18).

3.4.2.2 Vergleich der Häufigkeitsverteilungen der In-vitro-Adventivprossregeneration bei der Weißrandform von *Peperomia serpens*

Die Frage ist zu prüfen, ob sich die In-vitro-Regenerationsergebnisse bei Binnenfeld- und Blatt-randexplantaten unterscheiden. Da $n = 200$ größer als 100 ist, aber e_{ij} der weißen Adventivprosse kleiner als 30 ist ($e_{ij} = 9,50$), wird die Kontinuitätskorrektur angewendet.

Tab. 20: Chi-Quadrat-Test der Adventivprossregeneration an isolierten Blattexplantaten der Weißrandform von *Peperomia serpens*

	Wert	df	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (1-seitig)	Punkt-Wahrscheinlichkeit
Chi-Quadrat nach Pearson	20,994 ^b	1	,000	,000	,000	
Kontinuitätskorrektur ^a	18,843	1	,000			
Likelihood-Quotient	28,338	1	,000	,000	,000	
Exakter Test nach Fisher				,000	,000	
Zusammenhang linear-mit-linear	20,890 ^c	1	,000	,000	,000	,000
Anzahl der gültigen Fälle	200					

a. Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

b. 0 Zellen (0,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 9,50.

c. Die standardisierte Statistik ist -4,571.

Der Vergleich des berechneten χ^2_{pk} -Wertes (18,843) mit dem 0,95-Quantil der Chi-Quadrat-Verteilung $\chi^2_{0,95} = 3,841$ führt zur Ablehnung der Nullhypothese. Die In-vitro-Regenerationsergebnisse bei den Binnenfeld- und Blatt-randexplantaten unterscheiden sich statistisch signifikant (Tab. 20). Wie die Abbildung 39 zeigt, bildeten sich in der Mehrzahl grüne Regenerate. Die Mesochimäre entmischte in vitro zu 90,5% nach grün.

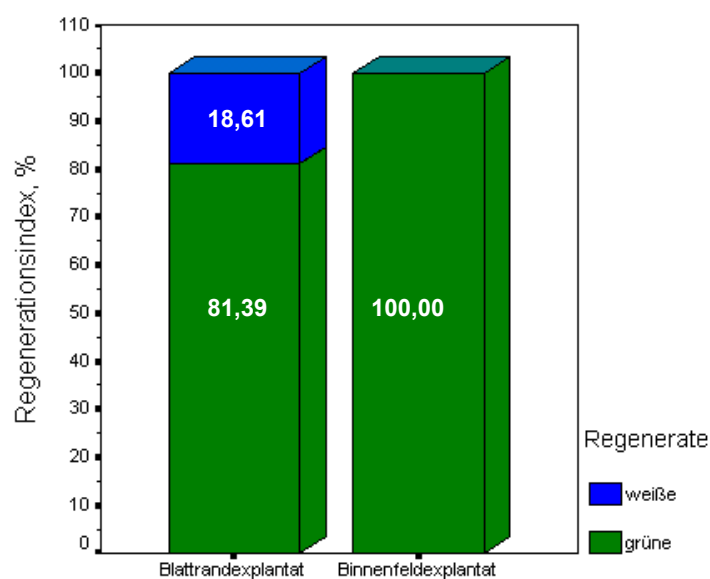


Abb. 39: Grafische Darstellung der In-vitro-Regenerationsindizes der Weißrandform von *Peperomia serpens* (Daten in Tab. 18).

3.4.2.3 Histologische Untersuchungen zum Bau des Kallus in der Blattregeneration

Wie In-vitro-Regenerationsergebnisse zeigten, bildeten die meisten Blattexplantate ausschließlich grüne Adventivsprosse. Wenige Explantate zeigten weiße Adventivsprosse. Es erhebt sich die Frage, wie es kommt, dass offensichtlich die grüne L1-bürtige Gewebeschicht der Blätter von *Peperomia serpens*, sei sie in Kombination mit der weißen L2- oder L3-bürtigen Gewebeschicht, bei den weißen Blattexplantaten der Weißrand- und Weißkernform stets den Großteil der Adventivsprosse aus ihren Folgegeweben hervorgehen lässt. Es wird angenommen, dass die von L1 abstammenden Adventivsprosse endogen entstehen. Man kommt der Lösung dieser Frage näher, wenn man die Gewebeschichten betrachtet, an denen die Adventivsprosse an weißen Blattexplantaten gebildet wurden. Bei histologischen Untersuchungen an Querschnitten von zwei Wochen alten Kalli von Blattexplantaten konnte das Gewebe, in dem die Zellteilung beginnt, festgestellt werden.

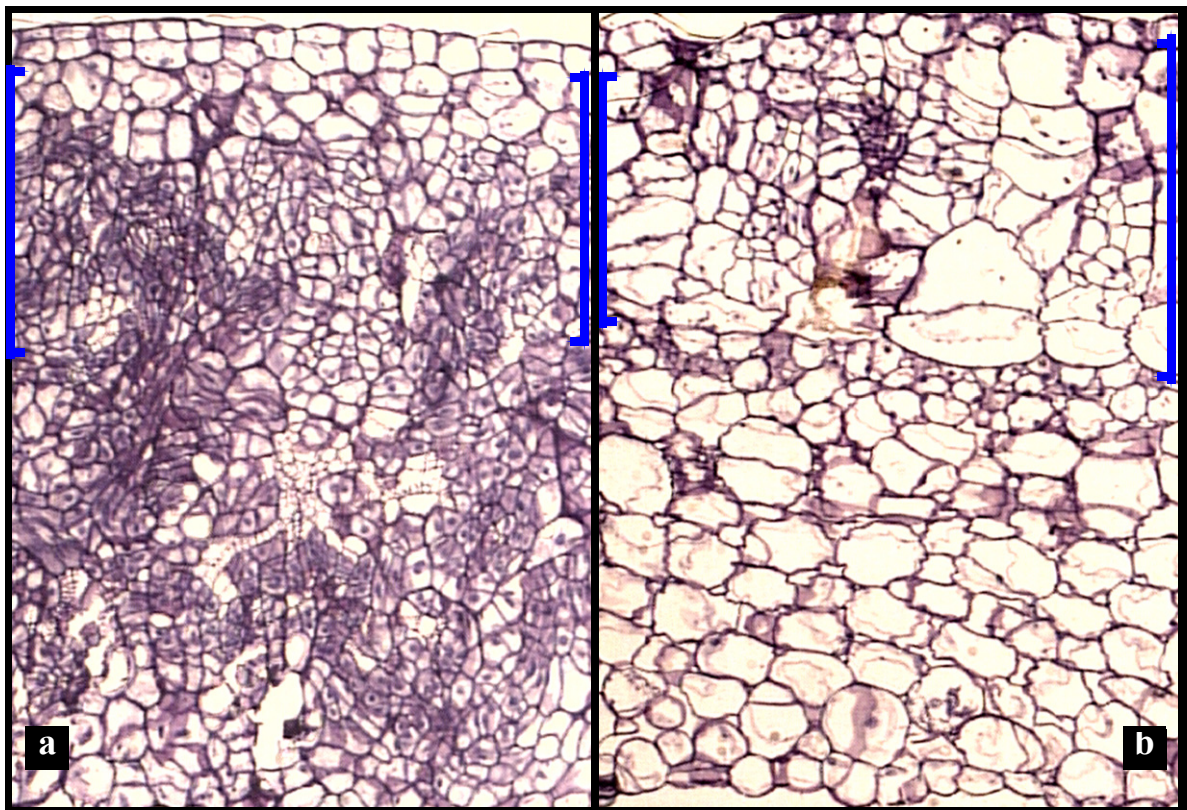


Abb. 40: Querschnitte durch die Kalli der weißen Blattexplantate von *Peperomia serpens* bei der In-vitro-adventivsprossregeneration (Kunststoff). (a) Querschnitt durch den Kallus des Binnenfeldexplantats der Weißkernform. (b) Querschnitt durch den Kallus des Blattrandexplantats der Weißrandform. Die markierten Bildteile stellen das L1-bürtige Hypoderm als Zentrum der ersten Zellteilung dar.

Analysiert und vergleicht man die in Abbildung 40 gegenübergestellten Querschnitte der Kalli weißer Blattexplantate, so ergibt sich hinsichtlich der Zellteilung volle Übereinstimmung mit dem, was an den Regeneraten phänotypisch beobachtet werden kann. Im L1-bürtigen Hypoderm, also dort, wo funktionstüchtige Chloroplasten enthalten sind, treten erste Zellteilungen auf. Es ist auch zu beobachten, dass perikline Zellteilungen im Hypoderm stattfanden. BERGANN und BERGANN

(1982) konnten an weißbunten Formen von *Peperomia obtusifolia*, *P. glabella* und *P. scandens* zeigen, dass die Adventivsprosse an Blattstecklingen endogen angelegt werden. POHLHEIM (1985) konnte diese Theorie mit seiner Arbeit über die Adventivsprossbildung an Blattstecklingen einer Monoektochimäre grün-weiß-weiß erhärten. Er zeigte, dass für die von L1-abstammenden Adventivsprosse eine endogene Entstehung zu vermuten ist. Diese Vermutung wurde hier durch die In-vitro-Regeneration bestätigt, da in Dauerpräparaten gezeigt werden kann, dass sich die Zellteilung hauptsächlich endogen manifestiert (in tiefliegenden Gewebeschichten). Es ist auch zu beobachten, dass sich die Zellen im L1-bürtigen Hypoderm periklin teilen können (Abb. 40). Festzuhalten ist, dass sich die grünen Adventivsprosse an den weißen Blattexplantaten der Weißbrand- und Weißkernform aus L1- oder L3-Abkömmlingen bildeten und dass das L1-bürtige Hypoderm an der Adventivsprossbildung beteiligt ist.

3.4.3 In-vivo-Adventivsprossregeneration bei *Sedum rubrotinctum*

Mit den Regenerationsversuchen zur Entmischung bzw. Umlagerung des Sprossscheitels werden im Allgemeinen zwei Ziele verfolgt: zum einen dienen sie dem Nachweis eventuell vorliegender Chimären, zum anderen aber auch der Erzielung neuer Formen aus Chimären auf vegetativem Wege. Welche Möglichkeiten der züchterischen Praxis durch Anwendung geeigneter Entmischungs- und Umlagerungsmethoden in die Hände gegeben sind, lässt sich dadurch zeigen, dass eine einzige Mutation, die sich in einer Initialschicht des in der Regel aus drei Initialschichten bestehenden Sprossscheitels manifestiert hat, eine Umlagerung bzw. Entmischung verschiedener Formen zulässt. Unter verschiedenen Methoden zur Entmischung von Chimären hat sich bei der Regeneration aus dem Laubblatt vor allem die Blattstecklingsmethode bewährt. Auch BERGANN & BERGANN (1984b) beobachteten an den isolierten Blättern von *Sedum rubrotinctum* drei verschiedene Adventivsprosstypen. Die in Tabelle 21 zusammengefassten Regenerationsergebnisse zeigen Unterschiede in der Adventivsprossbildung.

Tab. 21: In-vivo-Adventivsprossregeneration an isolierten Blattstecklingen von *Sedum rubrotinctum*

		Zahl der Blattexplantate	Blattregenerate			
			insgesamt	grün	weiß	variequat
Weißkernform	Stück	703	648	621	20	7 ⁱ
	%	100,00	92,18	95,83	3,09	1,08 ⁱ
Weißrandform	Stück	778	548	42	473	33 ⁱⁱ
	%	100,00	70,43	7,66	86,31	6,03 ⁱⁱ

ⁱ Sektoriale Chimäre (Abb. 43a)

ⁱⁱ Sektoriale Chimäre (Abb. 43b)

Die Auswertung des Regenerationsversuches bei der Periklinalchimäre grün-grün-weiß ergab, dass an den meisten Blattstecklingen homohistisch grüne Adventivsprosse entstanden (95,83%). Außerdem bildeten sich an einigen Blattstecklingen weiße (3,09%) oder variegata (1,08%) Adven-

tivsprosse. Die Ergebnisse zum Blattstecklingsregenerationsversuch mit der Weißrandform zeigen, dass an den Blattstecklingen neben zahlreichen homohistisch weißen (86,31%) auch homohistisch grüne (7,66%) und variegata (6,03%) Adventivsprosse regenerierten (Tab. 21). Die Häufigkeit homohistisch grüner, weißer und variegater Adventivsprossbildung stimmt etwa mit der Häufigkeit homohistisch grüner, weißer und variegater Regenerate überein, die von BERGANN & BERGANN (1984b) bei Blattstecklingsversuchen mit demselben Pflanzenmaterial erhalten wurde. Auf dem Weg der In-vivo-Regeneration am Blatt werden also stets neue Scheitel konstituiert, und bei dieser Neubildung geht deutlich die Konstitution der Chimären verloren. In den Abbildungen 41 bis 43 sind die Adventivsprosstypen dargestellt.

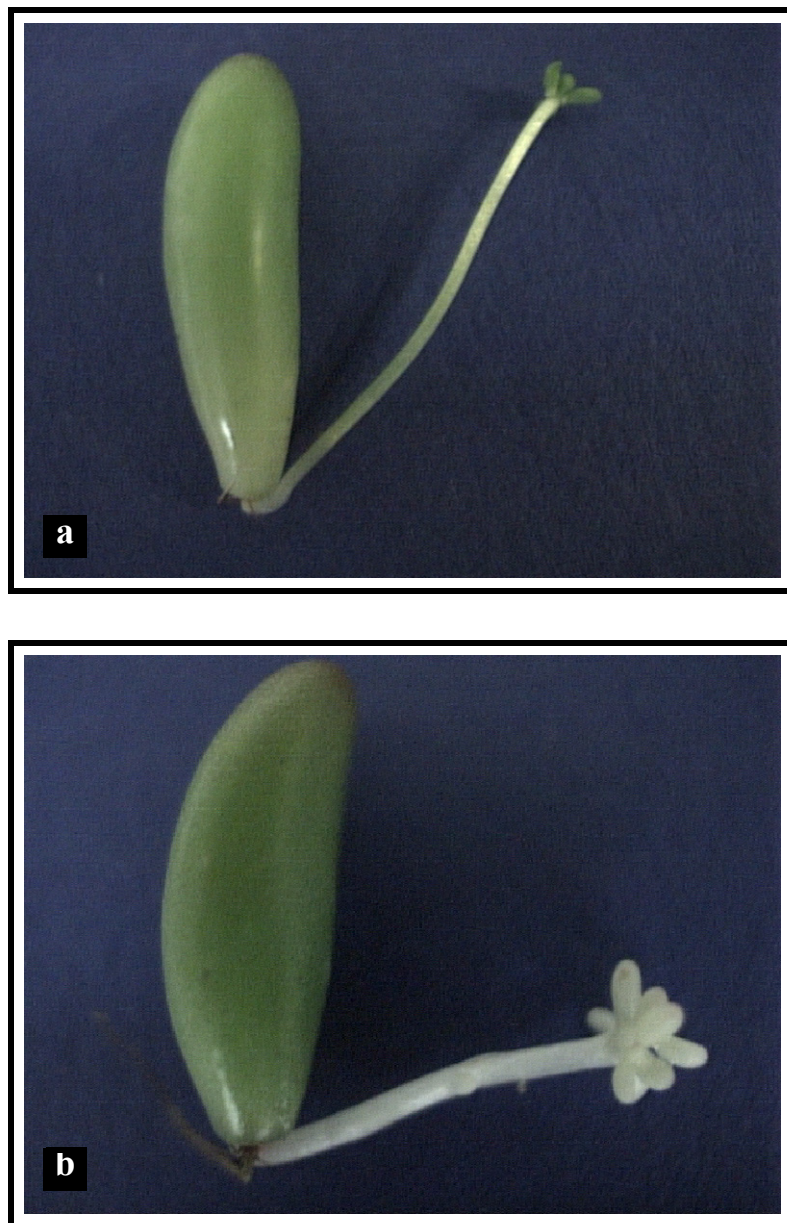


Abb. 41: Adventivsprossbildung an Blättern der Weißkernform von *Sedum rubrotinctum*. (a) Ein homohistisch grüner Adventivspross. (b) Ein homohistisch weißer Adventivspross.



Abb. 42: Adventivsprossbildung an Blättern der Weißrandform von *Sedum rubrotinctum*. (a) Ein homohistisch weißer Adventivspross. (b) Ein homohistisch grüner Adventivspross.



Abb. 43: Bildung variegater Adventivsprosse an Blättern der Weißkern- und Weißrandform von *Sedum rubrotinctum*. (a) Ein variegater Adventivspross der Weißkernform. (b) Ein variegater Adventivspross der Weißrandform.

Die anatomische Untersuchung ergab, dass es sich um folgende Formen von Sprossscheitelkonstitutionen handelt: GGG (makroskopisch homohistisch grün), WWW (makroskopisch homohistisch weiß), WWgW (Heterohistont mit grünem Sektor in der weißen L2-bürtigen Mesophyllschicht) und GGwG (Heterohistont mit weißem Sektor in der grünen L2-bürtigen Mesophyllschicht). Die Abbildung 44 zeigt die Stomata der homostisch grünen und weißen Adventivsprosse, die aus Weißrand- bzw. Weißkernformen entstehen. Außerdem sind in dieser Abbildung auch die Epidermisabzüge der beiden variegaten Adventivprostypen dargestellt.

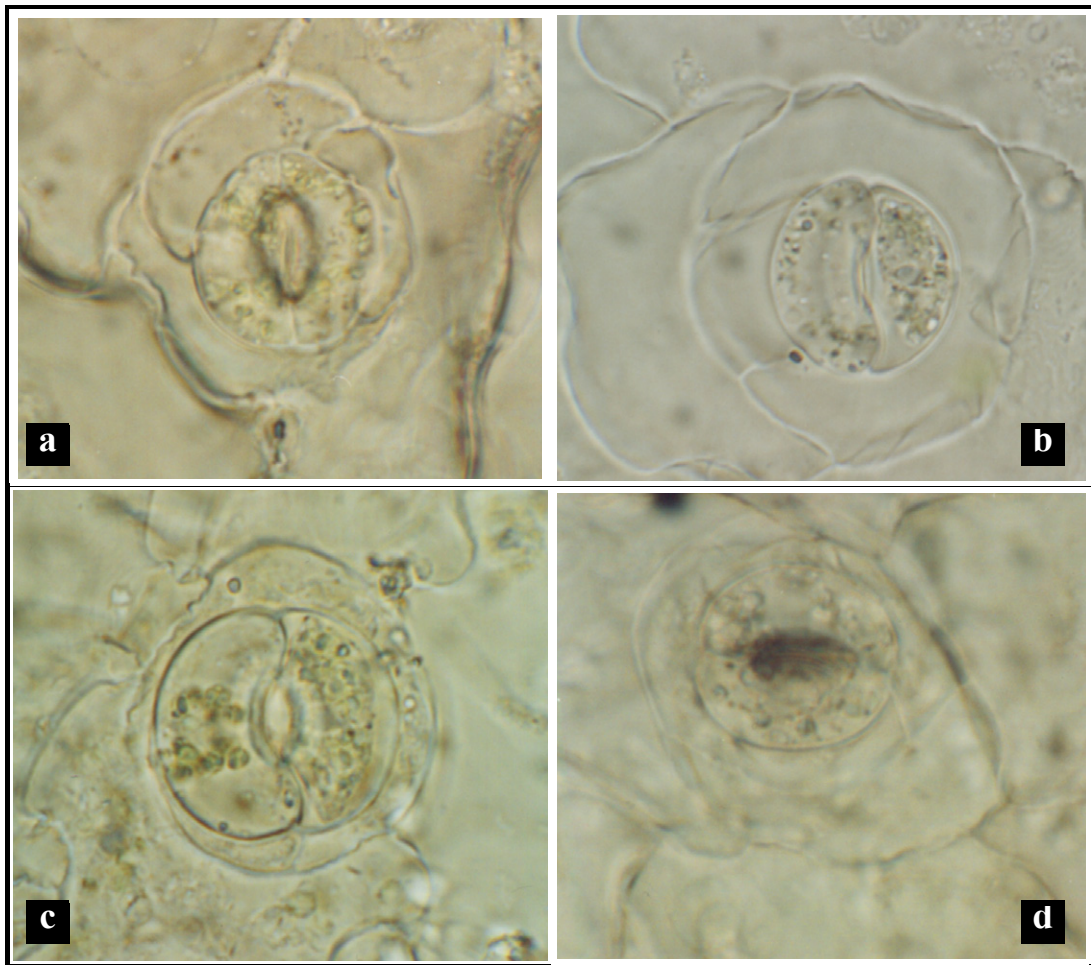


Abb. 44: Stomata der Adventivsprosse der Periklinalchimären von *Sedum rubrotinctum* bei der In-vivo-Adventivsprossregeneration. (a,b) Epidermisabzüge der phänotypisch grünen und weißen Adventivsprosse der Weißrand- und Weißkernform. (c,d) Epidermisabzüge der phänotypisch variegaten Adventivsprosse der Weißkern- bzw. der Weißrandform.

Die grünen und variegaten Adventivsprosse der Weißrandform bzw. der Weißkernform besitzen wie die anderen grünen Adventivsprosse an allen Stomata grüne Plastiden (Abb. 44 a,c). Die Plastiden in den Stomata der weißen und variegaten Adventivsprosse der Weißkern- bzw. Weißrandform sind grün (Abb. 44 b,d). Die Stomata der anderen weißen Adventivsprosse besitzen ebenso weiße Plastiden.

3.4.3.1 Häufigkeitsanalyse der In-vivo-Adventivprossregeneration bei den Chimären von *Sedum rubrotinctum*

Es ist zu prüfen, ob sich die Quantität in der Regeneration bei Stecklingen diekto- und mesochimärischer Blätter unterscheiden. Die Ergebnisse der Analyse wurden in Tabelle 22 zusammengefasst und in der Abbildung 45 vergleichend dargestellt.

Tab. 22: Chi-Quadrat-Test der Adventivprossregeneration an isolierten Blättern von *Sedum rubrotinctum*

	Wert	df	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (1-seitig)	Punkt-Wahrscheinlichkeit
Chi-Quadrat nach Pearson	155,437 ^a	2	,000	,000		
Likelihood-Quotient	188,872	2	,000	,000		
Exakter Test nach Fisher	185,101			,000		
Zusammenhang linear-mit-linear	134,560 ^b	1	,000	,000	,000	,000
Anzahl der gültigen Fälle	200					

a. 2 Zellen (33,3%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 3,50.

b. Die standardisierte Statistik ist -11,600.

Da das in der Tabelle 21 errechnete χ^2 wesentlich größer ist als der zu 2 Freiheitsgraden und $\alpha = 0,05$ gehörende χ^2 -Wert von 5,99, besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Blattregeneratypen der Diekto- und Mesochimäre.

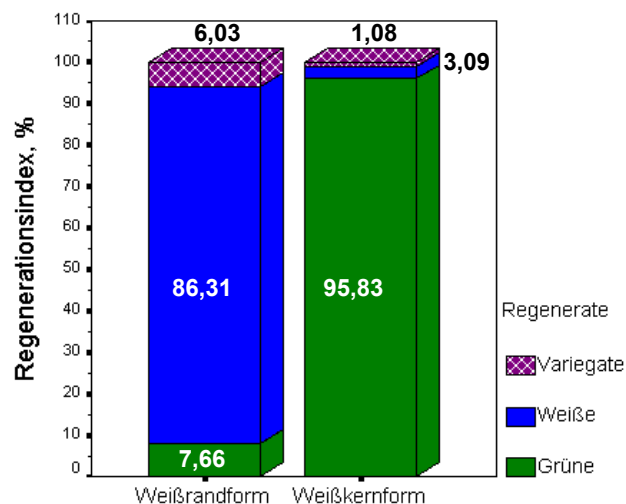


Abb. 45: Grafische Darstellung der In-vivo-Regenerationsindizes der Periklinalchimären von *Sedum rubrotinctum* (Daten in Tab. 21).

Vergleicht man die Regenerationsindizes der verschiedenartigen Adventivprosse an Blättern der Weißkern- und Weißrandform im Einzelnen miteinander, so fällt bei der Weißrandform die hohe

Rate rein weißer und variegater Regenerate gegenüber den rein grün erscheinenden unmittelbar ins Auge. Dagegen wurden bei der Weißkernform überwiegend rein grün erscheinende Regenerate und nur ganz wenige weiße oder variegata gebildet. Das bedeutet, dass in den Regenerationsversuchen das L3-bürtige Gewebe der Periklinalchimären nur relativ selten in den Prozess der Adventivspross- bzw. Blattmesophyllbildung einbezogen wurde. Aus diesen Regenerationsergebnissen lässt sich die beherrschende Rolle der L2-bürtigen Gewebe bei der Sprossbildung ablesen.

Wenn die L2-bürtigen Gewebe eine derartig große Bedeutung für die Adventivsprossbildung haben, indem sie in so hohen Prozentsätzen in die neuetablierten Scheitel eingehen, dann erhebt sich die Frage, welche anderen Gewebe in den neuen Sprossscheiteln und bei der Anlegung der variegaten Blätter bevorzugt in die Primordienbildung mit einbezogen werden, L1- oder L3-bürtige, die bei der Weißrandform beide grün sind. Das vorliegende Resultat bekräftigt die von BERGANN und BERGANN (1984b) an demselben Objekt gefundenen Ergebnisse und Aussagen. Angesichts der beträchtlichen Schwierigkeiten, die einer sicheren Aussage über die Beteiligung der Abkömmlinge der drei Sprossscheitelschichten an der Adventivsprossbildung entgegenstehen, wäre es sehr bedeutsam, histologische Untersuchungen an Längsschnitten der Adventivsprosse durchzuführen.

3.4.3.2 Untersuchungen zum Bau der Adventivsprosse im Blattregenerationsversuch

Zum Nachweis, dass sich an der Adventivsprossbildung der Weißkern- und Weißrandform von *Sedum rubrotinctum* die Abkömmlinge der drei Sprossscheitelschichten beteiligen, wurden die Längsschnitte im Dauerpräparat der Adventivsprosse durchgeführt. Die Abbildungen 46 und 47 zeigen diese Längsschnitte.

Dass keine der drei Scheitelschichten prinzipiell von der Teilnahme an der Adventivsprossbildung am isolierten Blatt ausgeschlossen werden kann und dass neben L2 und L1 auch noch L3 in der Lage ist, in die Adventivsprosse einzutreten, beweisen die weißen bzw. grünen Adventivsprosse an den Blättern der Weißkern- bzw. Weißrandform. Es wird angenommen, dass die von den periklinalchimärischen Blättern abstammenden variegaten Adventivsprosse aus dem Blatt entstehen, das von L1, L2 und L3 gebildet wurde. Man kommt der Lösung dieser Frage näher, wenn man die Stelle der Spreitenbasis betrachtet, an der die Sprosse entspringen. Bei histologischen Untersuchungen am Längsschnitt der Spreitenbasis drei Wochen alter Adventivsprosse konnte das Gewebe, in dem die Zellteilung sich hauptsächlich manifestiert und die Teilnahme aller drei Abkömmlinge an der Adventivsprossbildung festgestellt werden. Aus den Untersuchungen ergibt sich die große Zellteilung im L2-bürtigen Gewebe des Blattes. Damit kann man bzgl. der Adventivsprossregeneration an Blättern der Periklinalchimäre von *Sedum rubrotinctum* festhalten, dass ein L3-bürtiger Gewebekern schließlich von einem L2-bürtigen Gewebemantel umgeben ist, während der L1-Abkömmling nach wie vor auf die Bildung der Epidermis beschränkt ist. Das spricht dafür, dass die Bildung der variegaten Adventivsprosse durch eine gemeinsame Beteiligung der L2- und L3-bürtigen Gewebe hervorgerufen wird. Dazu kann gesagt werden, dass die vom Blatt gebildeten Adventivwurzeln, wie in zahlreichen anderen Fällen vegetativer Vermehrung aus Blättern höherer

Pflanzen, ebenfalls L3-bürtig sind (Abb. 46 und 47).

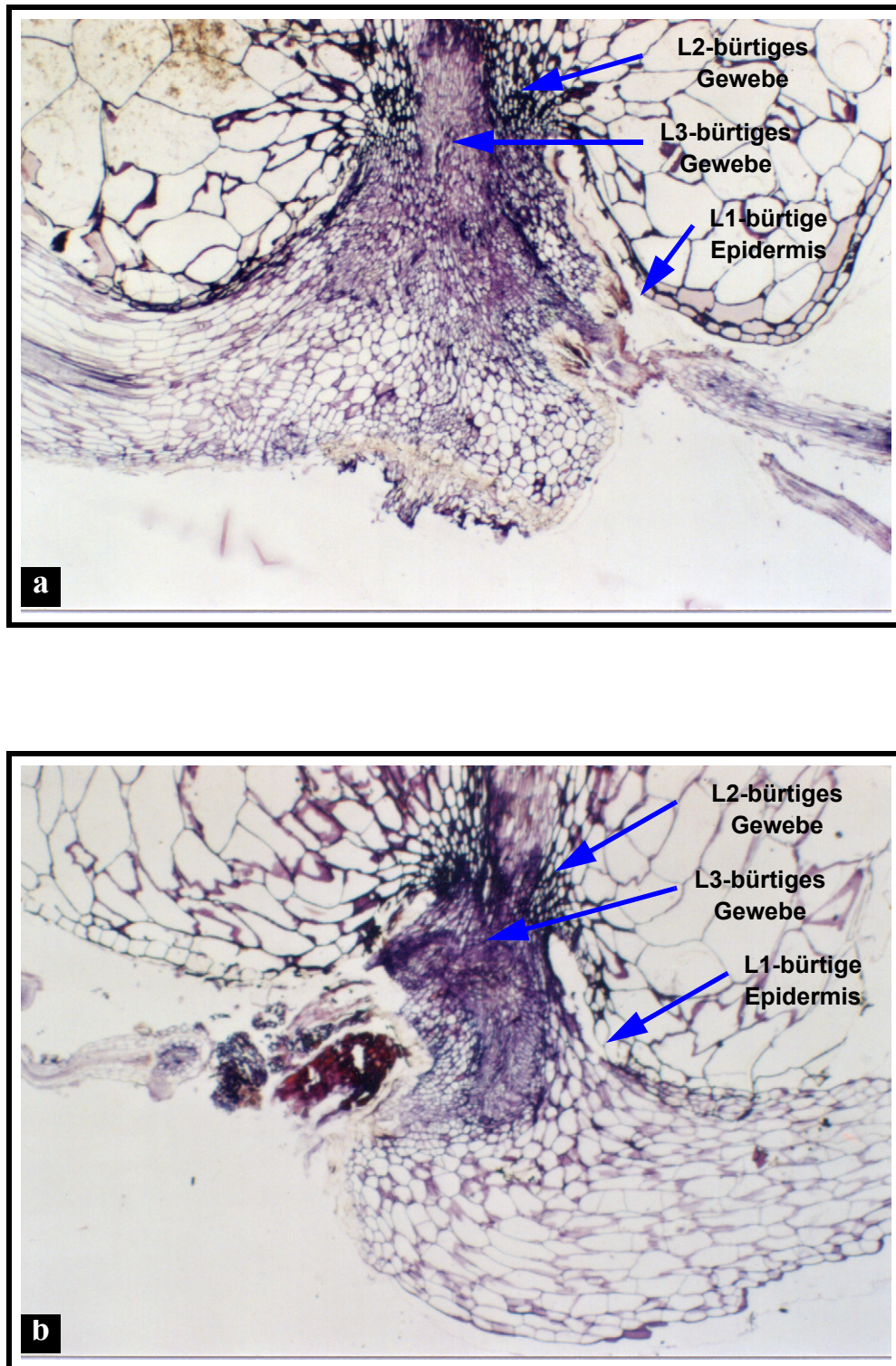


Abb. 46: Längsschnitt durch die homohistischen Adventivsprosse der Periklinalchimären von *Sedum rubrobractae* (Kunststoff). (a) Längsschnitt eines grünen Adventivsprosses der Weißkernform. (b) Längsschnitt eines weißen Adventivsprosses der Weißrandform. Die Zellteilung manifestiert sich hauptsächlich im L2-bürtigen Gewebe, aber eine mitotische Aktivität ist auch im L3-bürtigen Gewebe zu sehen.

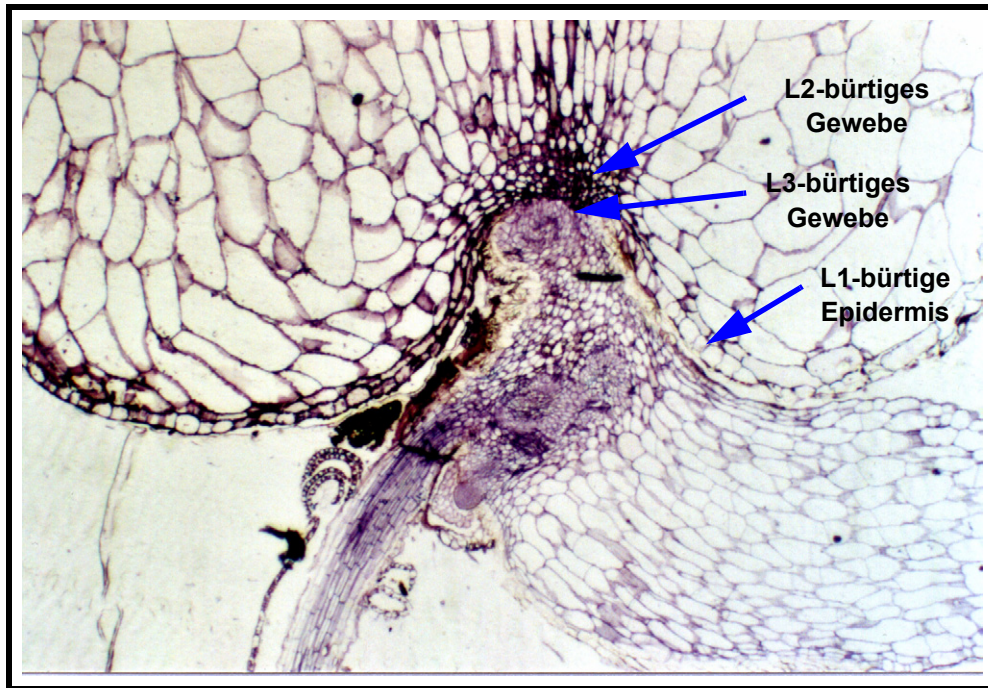


Abb. 47: Längsschnitt durch einen variegaten Adventivpross der Weißrandform beim Blattregenerationsversuch von *Sedum rubrotinctum* (Kunststoff). Die Zellteilung manifestiert sich hauptsächlich im L2-bürtigen Gewebe, aber eine mitotische Aktivität ist auch im L3-bürtigen Gewebe zu sehen.

3.5 Untersuchungen zur Bildung des Mesophylls nach einer Polyploidisierung bei *Plectranthus coleoides*

Verschiedene Ploidiechimären konnten nach einem Kolchizinversuch selektiert werden und dienten als Pflanzen mit doppelter Schichtenmarkierung dem Nachweis der Gewebekonkurrenz.

3.5.1 Untersuchungen zur Ploidiebestimmung



Abb. 48: Blätter der ploidiechimärishen (a) und normalen (b) Weißkernform von *Plectranthus coleoides*.

Im Vordergrund steht zunächst ein phänotypischer Vergleich der Blätter von normalen und ploidiechimärischen Pflanzen (Abb. 48 und 49).



Abb. 48: Blätter der ploidiechimärischen (a) und normalen (b) Weißrandform von *Plectranthus coleoides*.

Die Chimären mit phänotypisch sichtbaren Veränderungen konnten nach einer visuellen Analyse selektiert werden und dienten als Pflanzen der Ploidiebestimmung. Für Rückschlüsse auf den Ploidiegrad der ersten Scheitelschicht gilt die Messung der Schließzellengröße als nutzbare Methode (SCHWANITZ, 1952; KLOPFER, 1965; POHLHEIM, 1969b und 1971b; SANTOS & HANDRO, 1983; NAPPZINN, 1984 und 1988; PLASCHIL 1997 und OLBRICHT, 1998). Bereits auf der qualitativen Ebene sind Größenunterschiede deutlich erkennbar (Abb. 50). Da die Schließzellen der polyploiden Variante der Weißkernform im Mittel um das 1,3 fache größer als die der diploiden sind, kann auf einen tetraploiden Zustand der Epidermis (und der L1) geschlossen werden. Der Tabelle 23 sind die Daten dieser Untersuchungen zu entnehmen.

Tab. 23: Ergebnisse der Schließzellenuntersuchungen an den ploidiechimärischen und den normalen Pflanzen von *Plectranthus coleoides*

	Schließzellenlänge, Mittelwert in μm	
	Normale Variante	Kolchizinierte Variante
Weißkernform, Scheitelkonstitution grün-grün-weiß	19,50	25,25
Weißrandform, Scheitelkonstitution grün- weiß-grün	18,90	19,20

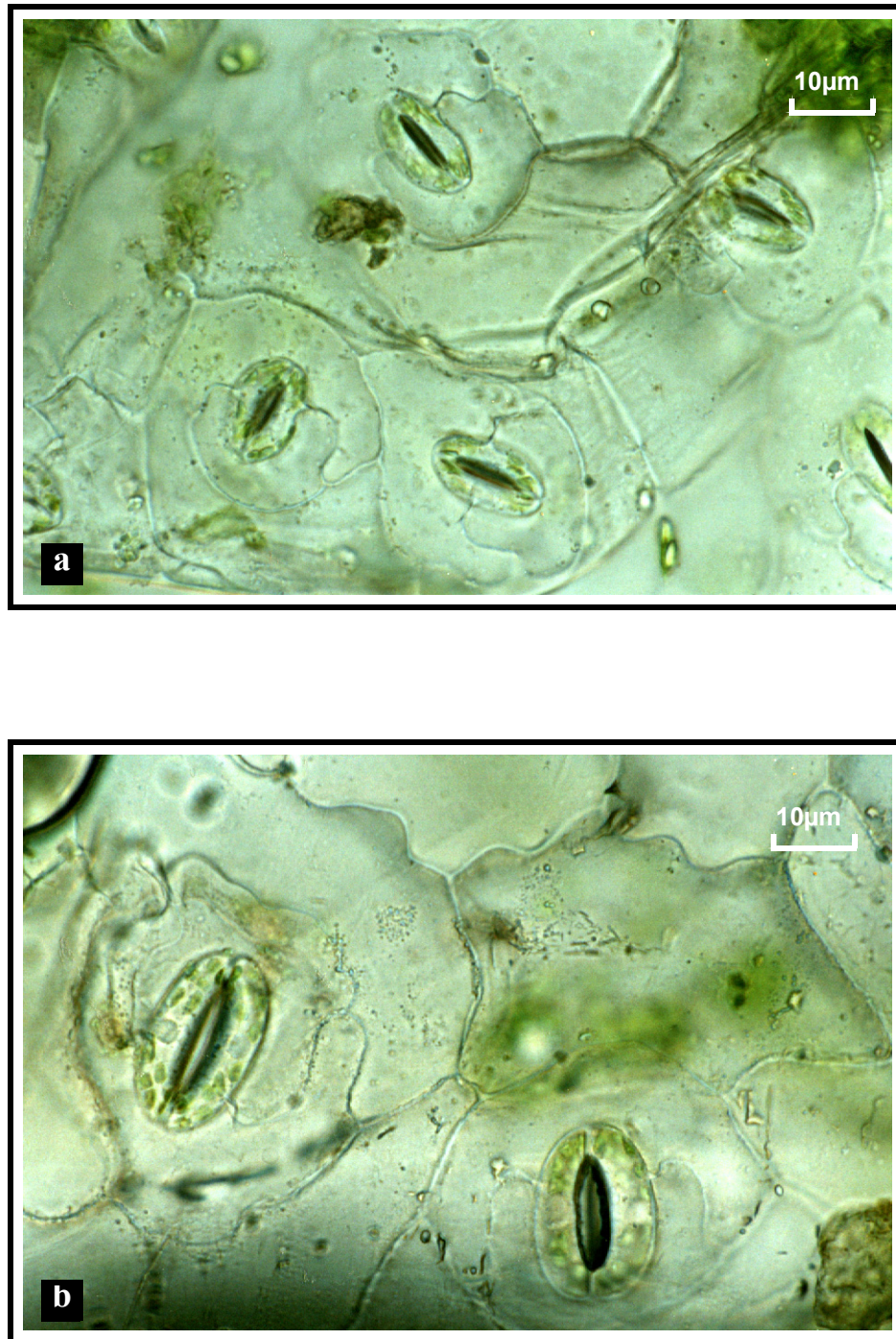


Abb. 50: Stomata der normalen (a) und ploidiechimärischen (b) Weißkernform von *Plectranthus coleoides* bei gleichem Vergrößerungsmaßstab auf dem Negativ (160x).

Weitere qualitative Analysen am Laubblatt der beiden Varianten zeigten eindeutige Größenunterschiede der Mesophyllschichten in Blattquerschnittsfotos. Bei Vergleichen des L2- und L3-bürtigen Mesophylls von Blättern beider Varianten waren ebenfalls Unterschiede in der Zellgröße zu erkennen. Mikroskopische Analysen von Blattquerschnitten zeigten im Mesophyll die Ploidiegrenze (verschiedene Zellgrößen) im Einklang mit dem Blattfarbverlauf (Abb. 51 und 52).

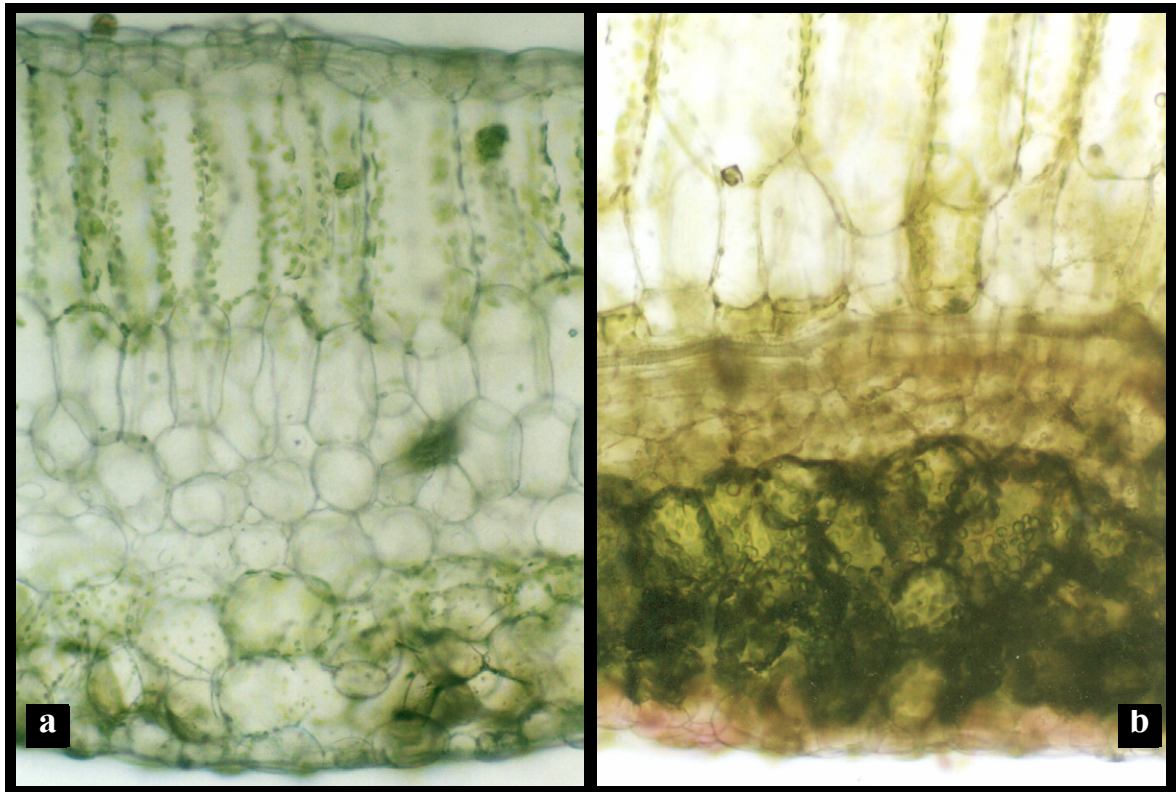


Abb. 51: Mesophyllzellen des Blattes der normalen (a) und ploidiechimärischen (b) Weißkernform von *Plectranthus coleoides* bei gleichem Vergrößerungsmaßstab auf dem Negativ (40x).

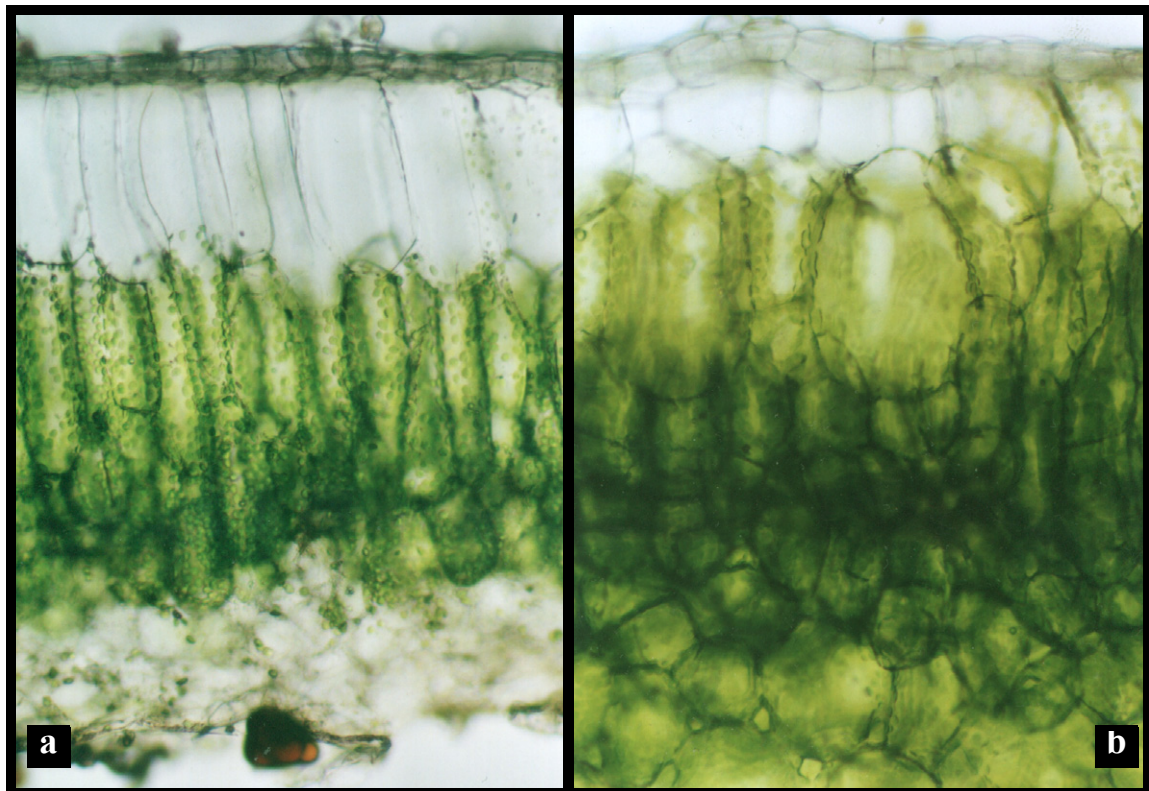


Abb. 52: Mesophyllzellen des Blattes der normalen (a) und ploidiechimärischen (a) Weißrandform von *Plectranthus coleoides* bei gleichem Vergrößerungsmaßstab auf dem Negativ (40x).

Eine weitere Methode zum Nachweis der Ploidiegrenze im Blattmesophyll stellt der Vergleich der Höhe der Blattmesophyllschichten innerhalb der Weißkern- bzw. Weißrandform dar. Die unterschiedliche Höhe der Mesophyllschichten innerhalb der Weißkern- bzw. Weißrandform wurde miteinander verglichen (Tab. 24 und 25; Abb. 53 und 54). Die Statistiktabellen und die Mittelwertgrafiken der Blattmesophyllschichthöhe gestatten die Bekräftigung der Aussagen über die Ploidiestufe der Mesophyllschichten.

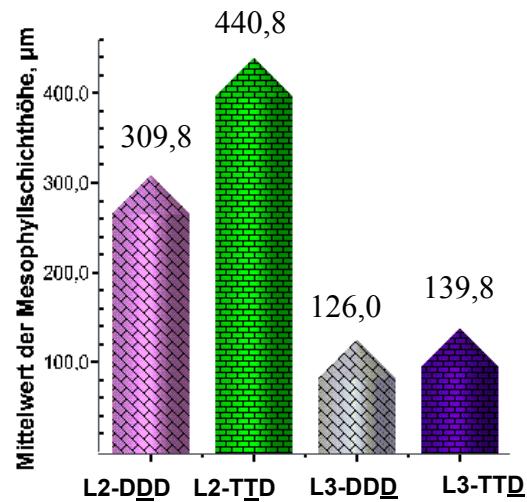
Tab. 24: Beschreibende Statistik der Mittelwerte der Mesophyllschichthöhen genetisch verschiedener Blattmuster der Weißkernform von *Plectranthus coleoides*

	Mittelwert	N	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Höhe grüner Mesophyllschichten von GGW/DDD (μm)	309,8	30	4,9706	,9075
Höhe grüner Mesophyllschichten von GGW/TTD (μm)	440,8	30	3,7480	,6843
Höhe weißer Mesophyllschicht von GGW/DDD (μm)	126,0	30	2,9261	,5342
Höhe weißer Mesophyllschichten von GGW/TTD (μm)	139,8	30	5,3874	,9836

Tab. 25: Beschreibende Statistik der Mittelwerte der Mesophyllschichthöhen genetisch verschiedener Blattmuster der Weißrandform von *Plectranthus coleoides*

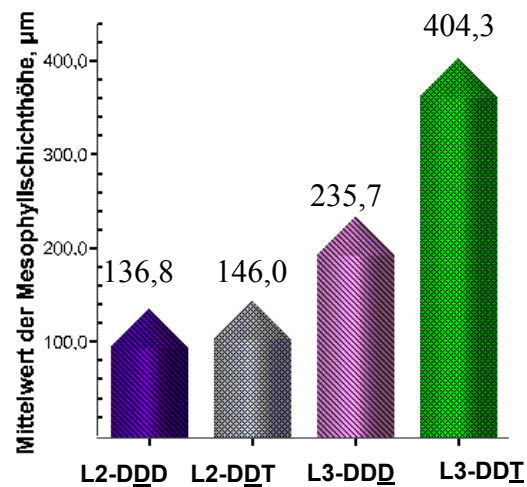
	Mittelwert	N	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Höhe weißer Mesophyllschichten von GWG/DDD (μm)	136,8	30	6,2134	1,1344
Höhe weißer Mesophyllschichten von GWG/DDT (μm)	146,0	30	5,0498	,9220
Höhe grüner Mesophyllschichten von GWG/DDD (μm)	235,7	30	2,8814	,5261
Höhe grüner Mesophyllschichten von GWG/DDT (μm)	404,3	30	7,5856	1,3849

Zum Schluss wurde festgestellt, dass die polyploidisierte L2 bei GGW/TTD (im Vergleich zu GGW/DDD) zur Vergrößerung der Höhe des grünen L2-bürtigen Gewebe durch stärkere Beteiligung der L2-Sprossscheitelschicht an der Bildung des Blattrandmesophylls führt. Ist bei der Weißrandform nur die grüne L3-bürtige Mesophyllschicht tetraploid (GWG/DDT im Vergleich zu GWG/DDD), kehrt sich dieser Effekt um, das weiße L2-bürtige Gewebe bei GWG/DDT ist auffällig klein. Bei den beiden Ploidie-Homohistonten GGW/DDD und GWG/DDD bleibt das Verhältnis der Höhe der Mesophyllschichten grün:weiß ungefähr gleich.



Weißkernform ,GGW'

Abb. 53: Vergleich der Mittelwerte der Mesophyllschichthöhe genetisch unterschiedlicher Blattmuster der Weißkernform von *Plectranthus coleoides*. Tetraploides Gewebe überwiegt (Daten aus Tab. 24).



Weißrandform ,GWG'

Abb. 54: Vergleich der Mittelwerte der Mesophyllschichthöhe genetisch unterschiedlicher Blattmuster der Weißrandform von *Plectranthus coleoides*. Tetraploides Gewebe überwiegt (Daten aus Tab. 25).

Dieser Ploidieunterschied der Gewebe im Laubblatt wurde auch als deutlicher Unterschied zwischen der Zellgröße der ersten (L1) und den folgenden (L2 und L3) Sprossscheitelschichten in histologischen Sprossscheitellängsschnitten der Ploidiechimären beobachtet (Abb.55 und 56).



Abb. 55: Sprossscheitellängsschnitt im Kunststoff-Dauerpräparat der Cytochimäre (TTD) der Weißkernform von *Plectranthus coleoides*.

Zellen der ersten beiden Sprossscheitelschichten (L1 und L2) der normalen Chimären waren ebenfalls kleiner als die in der ersten beiden Sprossscheitelschicht der Cytochimäre. Analysen der Sprossscheitellängsschnitte bestätigen die vorangegangenen Untersuchungsergebnisse und lassen annehmen, dass es sich bei der kolchizinierten Weißkernform von *Plectranthus coleoides* um eine Ploidiechimäre mit tetraploider L1 und L2 und diploider L3 handelt.

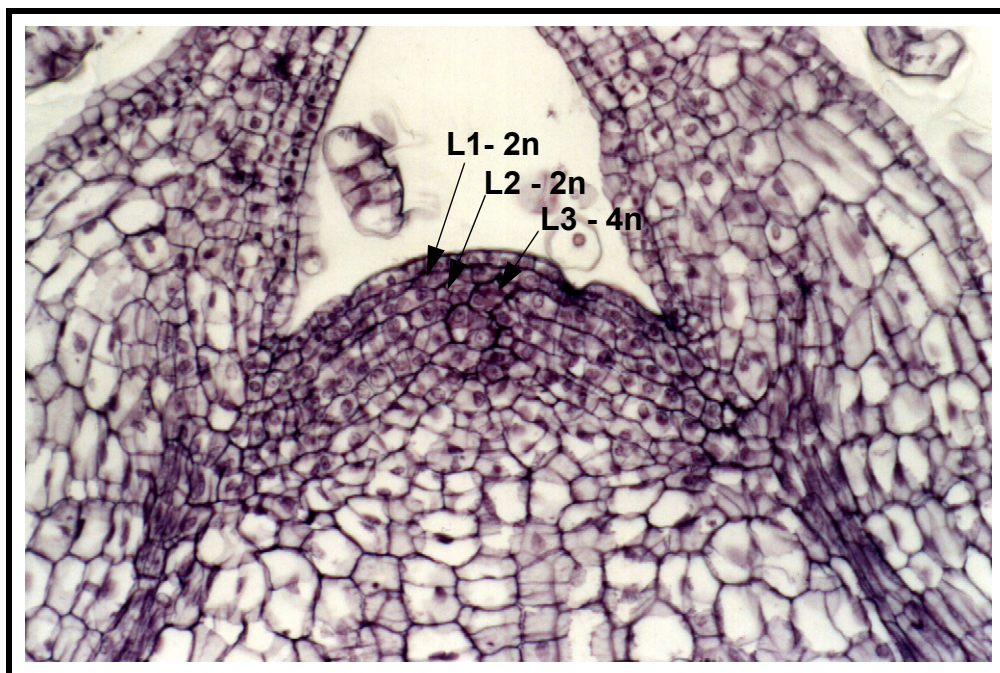


Abb. 56: Sprossscheitellängsschnitt im Kunststoff-Dauerpräparat der Cytochimäre (DDT) der Weißrandform von *Plectranthus coleoides*.

Dauerpräparate ermöglichen eine qualitative Aussage über Ploidiestufen einzelner Sprossscheitelschichten der Weißrandform von *P. coleoides*. Während bei der ploidiechimärischen Weißkern-

form nur die L3-Sprossscheitelschicht Diploidie aufweist, besitzt sie bei der Weißrandform auffällig tetraploide Zellen im Vergleich zur L1- und L2-Schichte, d.h. die kolchizinierte Weißrandform wird als Cytochimäre mit diploider L1 und L2 und tetraploider L3 bezeichnet.

3.5.2 Quantitative Musteranalysen des Blattmesophylls von Ploidiechimären

In dieser Untersuchung war die Frage zu prüfen, ob durch die doppelte Markierung ein Unterschied der Blattmesophyllschichthöhe (gemessen im Querschnitt) besteht oder nicht.

3.5.2.1 Vergleich der Höhe doppeltmarkierter L2-bürtiger Blattmesophyllschichten

Tab. 26: Vergleich der Mittelwerte zweier Höhen L2-bürtiger Blattmesophyllschichten von *Plectranthus coleoides*

		Levene-Test der Varianzgleichheit		t-Test für die Mittelwertgleichheit						
		F	Signifikanz	T	df	Sig. (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standardfehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
									Untere	Obere
Blattmesophyllschichthöhe in der Spreitemitte (µm)	Varianzen sind gleich	6,220	,016	256,8	58	,000	294,8167	1,1482	292,5	297,11
	Varianzen sind nicht gleich			256,8	53,51	,000	294,8167	1,1482	292,5	297,12

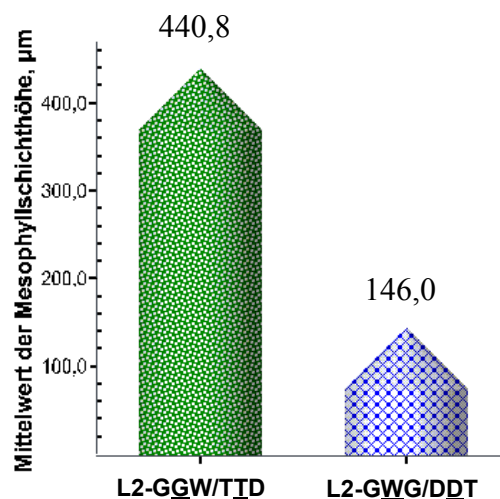


Abb. 57: Vergleich der Höhe der L2-bürtigen Blattmesophyllschicht verschiedener doppeltmarkierter Blattmuster von *Plectranthus coleoides* (Daten aus Tab. 24 und 25).

Da der errechnete α -Wert von 0,016 kleiner als der vorgegebene Wert ($\alpha_T = 0,100$) ist, wird Varianzgleichheit abgelehnt. Infolgedessen ist der t-Test für ungleiche Varianzen zu verwenden. Für den Vergleich der Mittelwerte ist die zweiseitige Irrtumswahrscheinlichkeit $\alpha_R = 0,00$ kleiner als $\alpha_T =$

0,05.

Das bedeutet, dass die Mittelwertgleichheit abzulehnen ist. Es besteht ein signifikanter Unterschied in der Blattquerschnittshöhe grüner tetraploider und weißer diploider Gewebe (Abb. 57).

3.5.2.2 Vergleich der Höhe doppeltmarkierter L3-bürtiger Blattmesophyllschichten

Es ist zu untersuchen, ob die genetisch unterschiedlichen Sprossscheitelschichten einen Einfluss auf die Höhe der zwei verschiedenen, L3-bürtigen Mesophyllschichten haben. Da $\alpha_R (0,035) < \alpha_T (0,100)$, ist die Varianzgleichheit der Blattmesophyllbreite zwischen grünen tetraploiden und diploiden weißen Mesophyllschichten nicht bestätigt (Tab. 27). Somit ist der t-Test für ungleiche Varianzen zu verwenden. Mit dem t-Test ist der Unterschied zwischen grünen tetraploiden und diploiden weißen Mesophyllschichten signifikant, weil die zweiseitige Irrtumswahrscheinlichkeit ($\alpha_{2R} = 0,000$) kleiner als 0,05 ist (Abb. 58).

Tab. 27: Vergleich der Mittelwerte zweier Höhen L3-bürtiger Blattmesophyllschichten von *Plectranthus coleoides*

		Levene-Test der Varianzgleich- heit		t-Test für die Mittelwertgleichheit						
		F	Signifi- kanz	T	df	Sig. (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standard- fehler der Differenz	95% Konfidenzinter- vall der Differenz	
									Untere	Obere
Blattmesophyll- schichthöhe in der Spreitemitte (µm)	Varianzen sind gleich	4,643	,035	-155,7	58	,000	-264,4233	1,6987	-267,8	-261
	Varianzen sind nicht gleich			-155,7	52,32	,000	-264,4233	1,6987	-267,8	-261

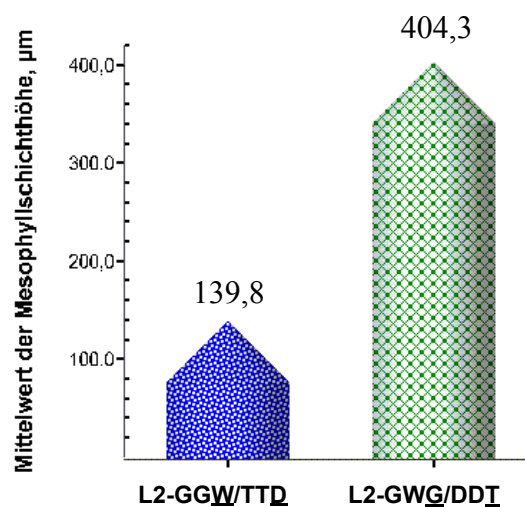


Abb. 58: Vergleich der Höhe der L3-bürtigen Blattmesophyllschicht verschiedener doppeltmarkierter Blattmuster von *Plectranthus coleoides* (Daten aus Tab. 24 und 25).

4 Diskussion

4.1 Beurteilung der histogenetischen Konstitution des verwendeten Pflanzenmaterials

Für die Diskussion der quantitativen Analyse der Beteiligung genetisch verschiedener internaler Sprossscheitelschichten an der Bildung des Blattmesophylls ist es notwendig, zunächst die Ergebnisse der histologischen Untersuchungen zum Bau des Sprossscheitels und der Studien der Blattanatomie eines jeden Pflanzenmusters zu besprechen.

Pflanzenmuster mit Chlorophylldefekten wählten neben den Chimärenforschern wie BERGANN & BERGANN (1983a & 1984b) und POHLHEIM (1985) auch andere Autoren (siehe TILNEY-BASSETT, 1986) aus. Bei allen untersuchten gleichartig weißbunten Pflanzenmustern von *Peperomia serpens*, *Sedum rubrotinctum*, *Pedilanthus tithymaloides* und *Plectranthus coleoides* konnten im anatomischen Bild der Sprossscheitel sowie der ersten Entwicklungsstadien der Seitenorgane (Blatt und Achselknospe) die Voraussetzungen, nämlich verschiedene selbstständige Schichten, gefunden werden, die für eine entwicklungsgeschichtlich bedingte Panaschüre gefordert werden mussten. Zur Klärung der Frage der histogenetischen Zusammenhänge zwischen der Panaschüre des Blattes und der Schichtung des Sprossscheitels ist es erforderlich, den Aufbau des Vegetationskegels der Periklinalchimären der vier untersuchten Arten sowie die Entwicklung der Achselknospen derselben zu untersuchen. Aufgrund der hier vorliegenden Ergebnisse histologischer Untersuchungen an den Pflanzenmustern von *Peperomia serpens*, *Pedilanthus tithymaloides*, *Sedum rubrotinctum* und *Plectranthus coleoides* können die Struktur des Sprossscheitels und die Beteiligung der Schichten an der Bildung des Blattmesophylls bestimmt werden.

Die Ergebnisse der histologischen Untersuchungen ermöglichen eine eindeutige Gliederung des Sprossscheitels in Schichten. Der Sprossscheitel der Weißkern- bzw. Weißbrandform von *Peperomia serpens*, *Sedum rubrotinctum*, und *Plectranthus coleoides* ist aus zwei Tunikaschichten (L1 und L2) und dem Corpus (L3) aufgebaut. Die Anzahl der Sprossscheitelschichten von *Peperomia serpens* und *Plectranthus coleoides* hat eine große Ähnlichkeit mit derjenigen, die HAGEMANN (1960) bei *Peperomia magnoliaefolia* und *P. glabella* und SCHWARZ (1927) bei *Plectranthus fruticosus* festgestellt haben. Bisher existiert keine Arbeit, die die Struktur des Sprossscheitels von *Sedum rubrotinctum* eingehend untersucht. An der Bildung der Blätter sind bei *Peperomia serpens*, *Sedum rubrotinctum* und *Plectranthus coleoides* drei Sprossscheitelschichten beteiligt. Aus der L1 entsteht im Laufe der Blattentwicklung die Epidermis. Die Beteiligung der L1 an der Bildung des Hypoderms wurde durch die histologischen Untersuchungen nicht nachgewiesen. Das Blattmesophyll stammt von L2 und L3.

Nach DAVE & PATEL (1975) legt der Aufbau des Sprossscheitels die Vermutung nahe, dass es sich bei *Pedilanthus tithymaloides* um zwei- oder dreischichtige Vegetationskegel handelt. Die vorlie-

genden Ergebnisse stehen in Widerspruch zu dieser Deutung, da der Sprossscheitel der Weißkern- bzw. der Weißrandform eine vierschichtige Gliederung (L1, L2, L3 und L4) aufweist und da alle vier Sprossscheitelschichten in das Blatt eingehen und sich somit an der Blattbildung beteiligen können. So steht fest, dass ein geschichteter Vegetationskegel bei *Pedilanthus tithymaloides* vorliegt. Die Anzahl der selbstständigen Schichten des Sprossscheitels ist in der Regel im Achsel-scheitel reproduziert. Die Analyse des Achselscheitels zeigte aber einen dreischichtigen Aufbau. Da die Struktur der beiden Scheitel nicht identisch ist, stellt sich die Frage über die Reproduktion und die Beteiligung der L4-Sprossscheitelschicht. Auf Grund dessen wird wie bei den drei vorigen Arten eine dreischichtige Beteiligung (L1, L2, L3) an der Bildung des Blattes für wahrscheinlich gehalten. Diese Behauptung über die Beteiligung der drei Sprossscheitelschichten an der Blattbildung stimmt mit dem von BRICAGE (1982) ontogenetisch geführten Nachweis überein, dass die L1-Schicht die Epidermis bildet und die L2- und L3-Schichten an der Bildung des Blattmesophylls beteiligt sind.

Eine andere Möglichkeit zur Untersuchung der Zahl selbstständiger Sprossscheitelschichten ist die Analyse mit einem Chlorophylldefekt markierter Blätter. Anhand der Musterbildung der Blätter, die durch die Deszendenz der unterschiedlichen genetischen Komponenten im Sprossscheitel hervorgerufen wird, kann auf den Vegetationskegelbau und seine chimärische Konstitution geschlossen werden. Um für *Peperomia serpens*, *Sedum rubrotinctum*, *Pedilanthus tithymaloides* und *Plectranthus coleoides* zu demonstrieren, welche endgültige Anordnung die aus dem Sprossscheitel übernommenen Zelldeszendenz von L1, L2 und L3 im adulten Blatt einnehmen, untersucht man Querschnitte aus den Spreiten je eines Blattes einer Weißrandchimäre und einer Weißkernchimäre (BERGANN & BERGANN 1982, 1983a & 1984b und BRICAGE 1982). Epidermisuntersuchungen zeigten in den Schließzellen aller untersuchten Pflanzenmuster wohlausgebildete grüne Chloroplasten. Aufgrund des Farbunterschiedes zwischen L2- und L3-bürtigem Mesophyll ist eine exakte Abgrenzung der beiden Zellherkünfte im Mesophyll möglich.

In ontogenetischen Untersuchungen wiesen BERGANN & BERGANN (1983a) nach, dass *Peperomia serpens* 'Weißrandform' und 'Weißkernform' Periklinalchimären mit chlorophylldefekter L2 bzw. mit chlorophylldefekter L3 sind. Die vorliegenden Ergebnisse machen deutlich, dass die L1-bürtige Epidermis grün ist. Der bereits von BERGANN & BERGANN (1983a) bei der Mesochimäre 'GWG', von POHLHEIM (1985) bei der GWW-Monoektochimäre und von LÜCKE (1989) bei den GWW- und WGG-Monoektochimären anhand vorausgesetzter L1-Bürtigkeit der grünen Flecke und Sprengel geführte Nachweis, dass das Hypoderm bei der *Peperomia*-Gattung unter der oberen Epidermis von der L1-Schicht abstammt, konnte durch die vorliegenden Untersuchungen bekräftigt werden, da dieses Wassergewebe bei der Weißrand- und Weißkernform Chloroplasten enthält. Der grüne Anteil des Blattmesophylls der Weißkernform stammt aus der L2, da dieses Gewebe bei der Weißrandform weiß ist. Das Binnenfeldmesophyll hat in der L3 seinen Ursprung, weil dieser Anteil des Mesophylls bei Weißrandformen grün und bei Weißkernformen weiß ist. Die Weißrand- bzw. die Weißkernform besitzt dementsprechend die Konstitution GWG und GGW.

BERGANN & BERGANN (1984b) stellten bei anatomischen Untersuchungen an der Weißbrand- und Weißkernform von *Sedum rubrotinctum* fest, dass diese beiden Pflanzenmuster als Mesochimäre und Diektochimäre zu erkennen sind. Diese Deutung stimmt mit der vorliegenden Musteranalyse überein, da die Ergebnisse der Blattanatomie eine eindeutige Zuordnung von Gewebekomponenten des Blattes (Epidermis, Randmesophyll und Binnenfeldmesophyll) zu drei selbstständigen Schichten im Sprossscheitel ermöglichen. Die aus L1 abstammende Epidermis ist bei Weißbrand- bzw. Weißkernformen grün, da die Stomata in diesem Gewebe Chloroplasten enthalten. Das Mesophyll des Blattmittelteils unterscheidet sich in seiner Konstitution vom Blattrandmesophyll. Bei Weißbrandformen ist dieses Binnenfeldmesophyll grün und bei Weißkernformen weiß und stammt somit von der L3. Die L2-Konstitution lässt sich über den gesamten Blattquerschnitt am subepidermalen Randmesophyll ablesen. Das L2-bürtige Randmesophyll ist bei Weißbrandformen weiß und bei Weißkernformen grün. Anhand der hier dargestellten Ergebnisse der Blattanatomie wird deutlich, dass die Befunde an der Weißbrandform denen in umgekehrter Weise bei der GGW-Diektochimäre entsprechen und damit diese Form klar als GWG-Mesochimäre interpretiert werden kann.

BRICAGE (1982) berichtete zur Anatomie des *Pedilanthus tithymaloides*-Blattes am Rande über die Beteiligung von drei Sprossscheitelschichten (L1, L2 und L3) an der Blattbildung. Aber die Interpretation einer chimärischen Konstitution des Blattes ist in dieser Arbeit nicht zu finden. Wie anatomische Untersuchungen der Weißbrandblätter zeigen, ist nur das L3-bürtige Mesophyll mit intakten Chloroplasten ausgestattet. Das Blattrandmesophyll ist wie bei den vorher beschriebenen Weißbrandformen von *Peperomia serpens* und *Sedum rubrotinctum* chlorophylldefekt. Die Weißrandform kann daher als Mesochimäre interpretiert werden. Eine Gegenüberstellung der Blattmuster beider Formen ließ erkennen, dass die Musterung der Weißkernform ebenfalls auf eine chimärische Konstitution zurückgeführt werden kann. Es ist festzustellen, dass bei der Weißkernform eine farbmarkierte Konstitution als Diektochimäre (grün-grün-weiß) vorliegt. Außerdem lassen die grünen Gewebeschichten in der Mitte des Blattmesophylls (siehe Abb. 14 a,b S. 24) vermuten, dass die vierte Scheitelschicht an der Bildung des Mesophylls beteiligt sein kann. Einen Nachweis für die Beteiligung einer vierten Sprossscheitelschicht gibt es auf Grund vorliegender Untersuchungen nicht.

Blattanatomische Untersuchungen der chimärischen Formen in der Gattung *Plectranthus* wurden bisher in der Literatur für die Art *P. coleoides* nicht erwähnt. Auf Grund von Untersuchungen der Stomata der Weißbrand- und Weißkernform von *P. coleoides* ist die Epidermis als genetisch grün zu charakterisieren. Dementsprechend muss die L1 grün sein. Von der L2 stammt das Randmesophyll. Durch die unterschiedliche Ausbildung von Chlorophyll ist L2-bürtiges Gewebe beim Vergleich der Weißbrand- und der Weißkernform genau abzugrenzen. Das Binnenfeldmesophyll wird von L3 gebildet. Bei Weißbrandformen ist L3-bürtiges Mesophyllgewebe grün und bei Weißkernformen weiß. Während bei der Weißbrandform die blattanatomischen Befunde einen mesochimärischen Aufbau (grün-weiß-grün) verdeutlichen, weisen die Ergebnisse bei der Weißkernform von *P. coleoides* auf eine diektochimärische Konstitution (grün-grün-weiß) hin.

4.2 Musteranalysen des Blattmesophylls zur Klärung der Gewebekonkurrenz

Der innerhalb eines Organismus ablaufenden Gewebekonkurrenz ist bisher wenig Aufmerksamkeit in der Forschung entgegengebracht worden. Häufig wurde dieses Phänomen nur benutzt, um spontane Ereignisse bei der Normalentwicklung wie z. B. das Verschwinden von Mutationen zu erklären. Zum Beispiel hat OLBRICHT (1998) die Bedeutung der Gewebekonkurrenz bei der Feststellung der Natur von Chimären an Blüten transgener *Petunia*-Pflanzenmuster hervorgehoben. Die vorliegende Arbeit stellt den Prozess der Gewebekonkurrenz in den Mittelpunkt der Untersuchungen. Genetisch unterschiedliche Gewebe können koexistieren und miteinander im Wettstreit stehen, wie es bei einer Periklinalchimäre der Fall ist. Das Konkurrenzverhalten der Sprossscheitelschichten bei der Beteiligung an der Blattmesophyllbildung lässt sich gut erkennen, wenn die Sprossscheitelschichten durch ihre unterschiedlichen Genome farbmarkiert sind. Es wurde untersucht, ob der weiße Blattmesophyllanteil einer Mesochimäre von dem entsprechenden grünen Blattmesophyllanteil einer Diektochimäre quantitativ unterschieden werden kann. Wichtig ist zu betonen, dass nur wenige Publikationen zur Analyse des quantitativen Ausmaßes der Gewebekonkurrenz recherchiert werden konnten. Anhand der Mächtigkeit der Mesophyllschichten und des Hintergrundwissens über die Scheitelkonstitution (Farbmarkierung) lassen sich Überlegungen zur Gewebekonkurrenz anstellen:

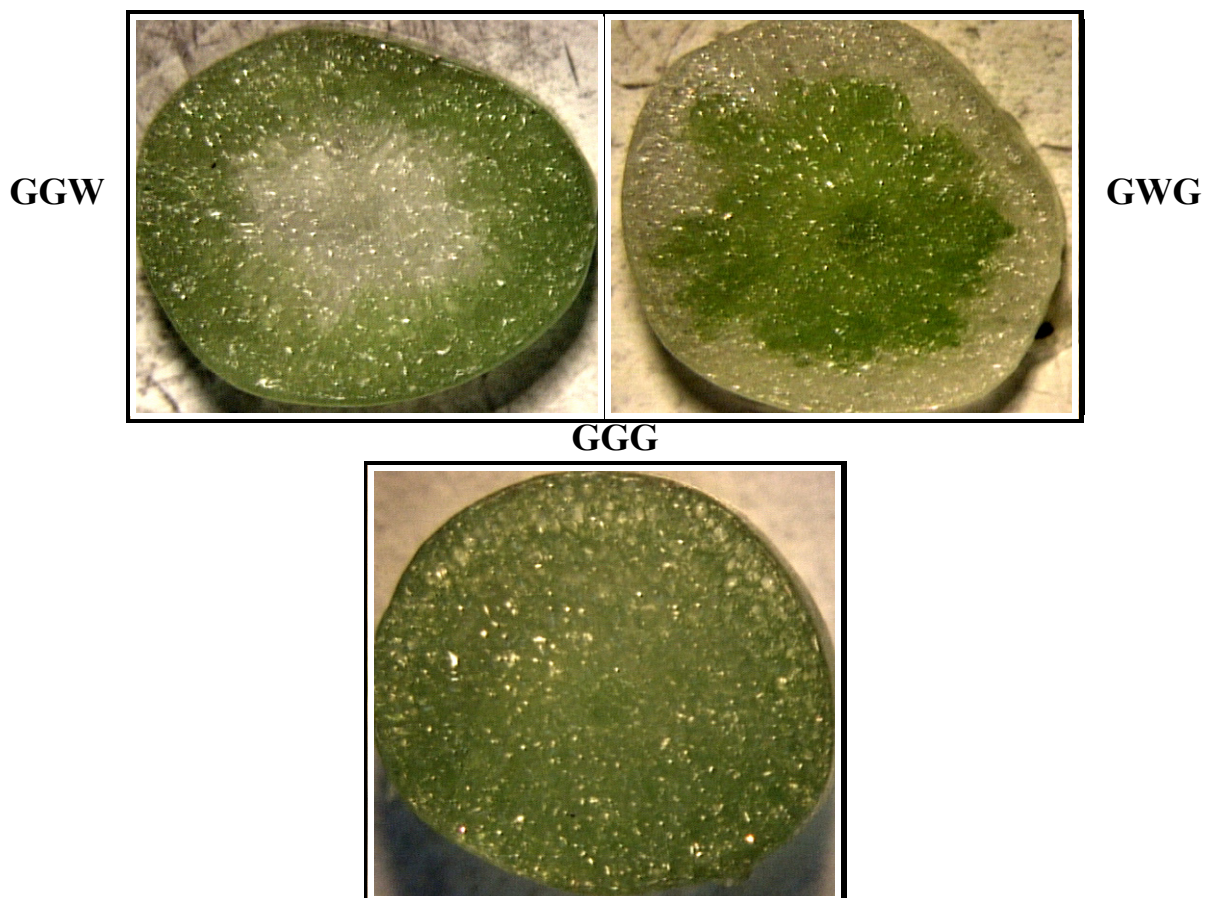


Abb. 59: Querschnitte durch Blätter der Diektochimäre, Mesochimäre und normal grünen Variante bei *Sedum rubrotinctum*. Die Anordnung und die Stärke von L2- und L3-bürtigem Mesophyll zeigend.

Die durchgeführten Untersuchungen am Pflanzenmuster von *Sedum rubrotinctum* konnten Aufschluss über den Prozess der Gewebekonkurrenz geben. Die unterschiedliche Mächtigkeit der Mesophyllschicht der Konstitutionen 'GGG', 'GGW' und 'GWG' wird in der Abbildung 59 deutlich.

Die Quantifizierung dieses Unterschieds mit Hilfe des EDV-Programms 'UTHSCSA Image Tool' (UTHSCSA, 1997) ergab bei der normal grünen Variante eine durchschnittliche Blattquerschnittsfläche von 51,68 mm², bei der Diektochimäre eine Mesophylloberfläche von 43,01 mm² und bei der Mesochimäre eine Blattquerschnittsfläche von 42,60 mm². Im Vergleich hierzu ergab die statistische Analyse der gesamten Blattquerschnittsflächen für die drei Blattmuster einen signifikanten Unterschied von 8,67 mm² zwischen den rein grünen und diektochimärischen Blättern und von 9,08 mm² zwischen den rein grünen und mesochimärischen Blättern. Jedoch ergab diese statistische Analyse keinen signifikanten Unterschied zwischen den weißkernigen und weißrandigen Blattmustern. Die Blattquerschnittsflächenunterschiede zwischen den Blattmustern könnten daher als Wirkung der histogenetischen Konstitutionen auf das Ausmaß des Blattmesophylls interpretiert werden. Unterschiede in der Mächtigkeit des Blattmesophylls können durch eine Änderung der Zellgröße oder durch eine Änderung der Zellzahl pro Schicht verursacht werden.

Die Ergebnisse der Vergleichsanalysen der Blattquerschnittsflächen L2-bürtiger Blattränder bzw. L3-bürtiger Binnenfelder zeigen, dass der Effekt der höheren Anzahl an chlorophyllintakten Mesophyllzellen überwiegt. Bei GGW (im Vergleich zu GWG) führt die chlorophyllintakte L2-Scheitelschicht zur Vergrößerung des grünen Gewebes durch stärkere Beteiligung dieser Scheitelschicht am Randmesophyll des Laubblattes. Ist die dritte Scheitelschicht chlorophyllintakt, kehrt sich dieser Effekt um, der weiße Gewebeanteil bei GWG ist auffällig klein. Bei den beiden Heterohiston-ten GGW und GWG bleibt das Flächenverhältnis grün:weiß ungefähr gleich (bei GGW 24,87:18,13 = 1,4 ; bei GWG 22,92:19,68 = 1,2). Chlorophyllintaktes Gewebe scheint bei *Sedum rubrotinctum* chlorophylldefektem gegenüber bevorteilt zu sein, was vermutlich durch eine höhere Teilungsfrequenz (die chlorophyllintakten Zellen teilen sich häufiger als die chlorophylldefekten: HAGEMANN, 1964) bedingt ist. Bei der Interpretation des Konkurrenzverhaltens dieser Gewebe müssen die periklinen Teilungen eines Zelltyps berücksichtigt werden, weil sie der entscheidende Faktor der Gewebekonkurrenz sind. Durch die Untersuchung zur Blattregeneration an variegaten chimärischen Formen von *Sedum rubrotinctum* auf quantitativer Basis kann die Aussage bewiesen werden.

Die quantitative Auswertung der Blattmesophyllmuster weißbunter Periklinalchimären erklärt die Gewebekonkurrenz bei der Ausbildung der beschriebenen Blattmuster von *Pedilanthus tithymaloides* und *Peperomia serpens*. Damit muss das Mesophyll eines diektochimärischen und eines mesochimärischen Blattmusters zum Vergleich herangezogen werden. Um die Regel des Konkurrenzverhaltens ableiten zu können, wurde folgendes, anpassendes Ausmaß verwendet: bei unterschiedlichen chimärischen Blattmustern derselben Art wurde die Querschnittshöhe des Mesophylls (ausschließlich beider Epidermen und Hypoderm) in jedem Blattanteil gemessen. Für den Vergleich wurden anhand von Querschnitten des Blattrandes und Binnenfeldes Messungen des

Mesophylls vorgenommen. Zur Methodik der quantitativen Auswertung bei *Pedilanthus tithymaloides* und *Peperomia serpens* konnten in vorliegenden Publikationen kaum Hinweise gefunden werden.

Die vergleichenden Untersuchungen zur Querschnittshöhe des Mesophylls an zwei unterschiedlich farbmarkierten Blattanteilen von *Pedilanthus tithymaloides* ergaben, dass eine dominante Beteiligung an der Blattmesophyllbildung der chlorophyllintakten internalen Sprossscheitelschichten deutlich ist (Abb. 60). Bei den beiden Heterohistonten GGW und GWG bleibt das Querschnittshöhenverhältnis grün:weiß ungefähr gleich (bei GGW $516,1/408,1 = 1,3$; bei GWG $605,1/385,4 = 1,6$). Die Verhältniszahlen zeigen, dass das Binnenfeld den Blattrand in der Querschnittshöhe immer überwiegt. Diese Verhältnisse zeigen, dass das grüne Gewebe innerhalb einer Chimäre das weiße überwiegt. Bei der Interpretation des signifikanten Unterschieds zwischen weißem und grünem Gewebe von periklinalchimärischen Blättern muss die histogenetische Herkunft berücksichtigt werden, da in der Vergleichsanalyse der L2- bzw. L3-bürtigen Mesophyllhöhen die mittlere Differenz der L3-bürtigen Gewebe ($89\text{ }\mu\text{m}$) viermal größer als die der L2-bürtigen Mesophylle ($22,7\text{ }\mu\text{m}$) ist. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass wenig Mesophyllgewebe aus der L2-Schicht abstammt. Es wird angenommen, dass die L3-Sprossscheitelschicht an der Bildung des Blattmesophylls aktiver als die L2-Schicht teilnimmt.

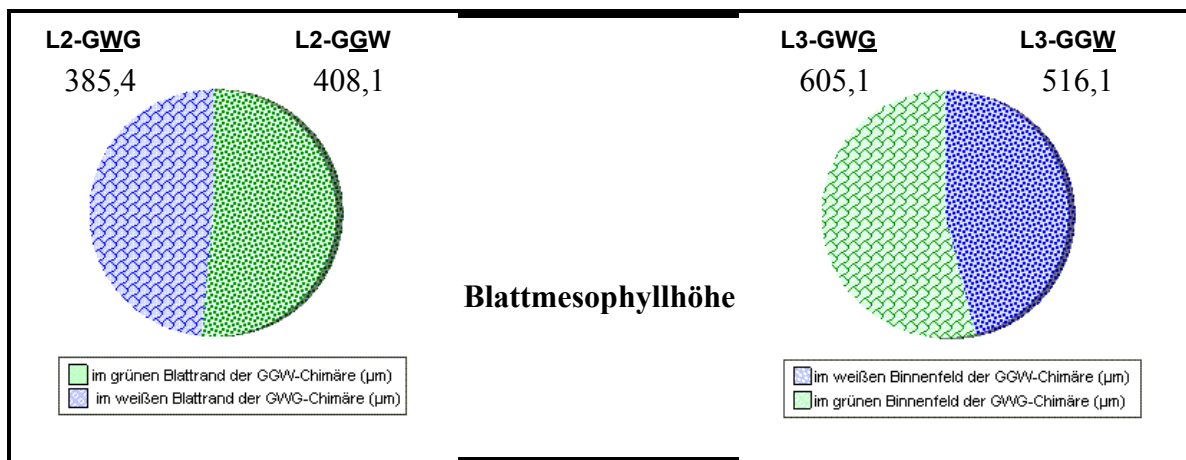


Abb. 60: Vergleich der Mittelwerte der Blattmesophyllhöhe genetisch unterschiedlicher Blattanteile von *Pedilanthus tithymaloides*. Grünes Gewebe überwiegt sowohl bei von L2- als auch von L3-abstammendem Mesophyll.

Durch die Untersuchungen weiterer periklinalchimärischer Formen der Art *Peperomia serpens* auf gleicher Basis kann diese Interpretation gleichfalls angewendet werden. Durch das Studium an Periklinalchimären von *Peperomia serpens* konnte man gleichfalls feststellen, dass die Prävalenz der Beteiligung grünmarkierter Gewebe an der Bildung des Blattmesophylls deutlich ist (Abb. 61) und dass das Querschnittshöhenverhältnis grün:weiß bei den beiden Heterohistonten GGW und GWG etwa gleich ist (bei GGW $572,2/511,9 = 1,1$; bei GWG $622,9/387,3 = 1,6$). Bei der Vergleichsanalyse der L2- bzw. L3-bürtigen Mesophyllhöhen ist die mittlere Differenz der L3-bürtigen Gewebe ($50,7\text{ }\mu\text{m}$) fast dreimal kleiner als die der L2-bürtigen Mesophylle ($124,6\text{ }\mu\text{m}$). Somit ist denkbar, dass die L2-Sprossscheitelschicht an der Bildung des Blattmesophylls aktiver als die

L3-Schicht teilnimmt.

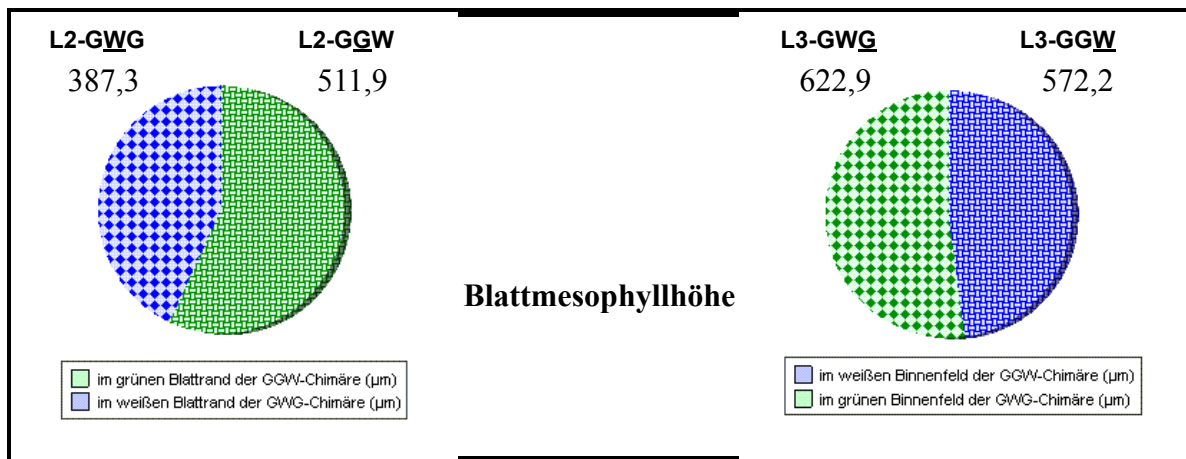


Abb. 61: Vergleich der Mittelwerte der Blattmesophyllhöhe genetisch unterschiedlicher Blattanteile von *Peperomia serpens*. Grünes Gewebe überwiegt sowohl bei von L2- als auch von L3-abstammendem Mesophyll.

Es wird deutlich, dass das Modell der Gewebekonkurrenz im Blattmesophyll bei *Pedilanthus tithymaloides* nicht auf alle Arten übertragen werden kann. Die gefundenen Mesophyllhöhendifferenzen zwischen L2-bürtigen bzw. L3-bürtigen Blattmesophyllen lassen sich vermutlich auf ein histogenetisches Konkurrenzverhalten bei der Bildung des Mesophylls zurückführen, da in der Vergleichsanalyse signifikante Größenunterschiede bei den Mesophyllen gefunden wurden. Dies zeigt, dass die Bildung des Blattmesophylls einer bestimmten genetischen Regel folgt. Vermutlich liegt das Konkurrenzverhalten in der L2- bzw. L3-Schicht und ist mit dem Chlorophylldefekt gekoppelt. Ein Blattregenerationsversuch, bei dem die Blätter der Periklinalchimären (Diekto- bzw. Mesochimäre) auf ihren L2- bzw. L3-Bereich geteilt werden, könnte hier genauere Aussagen erlauben.

4.3 Betrachtungen zur Gewebekonkurrenz während der Adventivprossbildung

Bei den Pflanzen geht die Anlage der Organe und die Differenzierung der Gewebe nicht wie bei den Tieren in der frühen Embryonalentwicklung vor sich, sondern während des Wachstums und der Entwicklung des Pflanzenorganismus sind stets Meristemzellen vorhanden (totipotente Zellen). Diese Eigenschaft der Pflanzen bewirkt, dass jeder Teil derselben sich unter geeigneten Umständen zu einem Organismus entwickeln kann, d.h. dass die Pflanzen vegetativ vermehrbar sind. Diese Eigenschaft der Pflanzen, sich mit Hilfe in der Natur vorhandener Bedingungen vegetativ zu vermehren und ihre Fähigkeit zur Regeneration durch künstliche Maßnahmen werden in der vorliegenden Arbeit ausgenutzt, um das Konkurrenzverhalten bei der Adventivprossbildung zu analysieren. Den Schwerpunkt der Untersuchungen bildeten *Peperomia serpens* und *Sedum rubrotinctum*.

4.3.1 Zur Adventivsprossbildung bei *Peperomia serpens*

Über den Regenerationsverlauf an Blättern von Periklinalchimären liegen einige wichtige Untersuchungen vor, die an *Peperomia serpens* durchgeführt wurden. Die Verwendung von weißbunten Pflanzenmustern ermöglicht eine gute Unterscheidung sowohl des Herkunftsgewebes als auch der Adventivsprosse.

Die Bildung von Adventivsprossen bei *Peperomia serpens* aus isolierten Blattstücken (distale und proximale Blattspreite, obere und untere Blatthälfte) und achselknospenfreien Sprossen ist zunächst eine wichtige und erweiterte (vgl. BERGANN & BERGANN, 1982 und LÜCKE, 1989) Methode des Nachweises der Chimärennatur, da Adventivsprossbildung in der Regel zur Chimärenentmischung führt. In der Blattregeneration von *Peperomia serpens* bilden sich reichlich Adventivsprosse. Dabei bestehen hinsichtlich der Konstitution und der Quantität der gebildeten Sprosse deutliche Unterschiede zwischen Varianten der Diektchimäre ‘GGW’ und der Mesochimäre ‘GWG’. Bei den Versuchen zur Regeneration an Blattstücken und achselknospenfreien Sprossen bei *Peperomia serpens* konnte demonstriert werden, dass die anhand der Scheckungsmuster als Diektchimäre ‘GGW’ und Mesochimäre ‘GWG’ zu erkennenden Pflanzen auch über die Adventivsprossbildung hinaus ihre chimärische Konstitution zeigten. Da sie als variegated chimärische Pflanzenmuster nach grünen und weißen Adventivsprossen entmischten. Es traten sowohl homohistisch grüne als auch homohistisch weiße Regenerate auf. Neben homohistischen Adventivsprossen wurden heterohistische Adventivsprosse beobachtet, bei denen sich weißes und grünes Gewebe annähernd sektorial zu einer neuen Sprossspitze zusammenfügte. Die Varianten der Diektchimäre (ausschließlich die Variante der distalen Blattspreite) entmischten durchschnittlich zu etwa 82 % nach weiß, die Varianten der Mesochimäre (ausschließlich die Variante der distalen Blattspreite) dagegen zu etwa 94 % nach grün. Aus diesem Unterschied in den Prozentsätzen von Adventivsprossen resultiert die Schlussfolgerung, dass die Bildung der Adventivsprosse von dem L3-bürtigen Gewebe als Abkömmling der Initialzellen gesteuert ist.

BERGANN und BERGANN (1982) beobachteten an den Blattstecklingen von *Peperomia serpens*, dass sowohl bei den Blatt- als auch bei den Achselregeneraten die weitaus überwiegende Anzahl der Sprosse die jeweilige Innenkomponente individualisiert. Das entspricht dem Ergebnis von LÜCKE (1989), die ebenfalls mit der Regeneration an achselknospenfreien Sprossen bei der Mesochimäre ‘GWG’ von *Peperomia serpens* über 90 % grüne Adventivsprosse erhielt.

Die Auswertung der Adventivsprosse aus distalen Blattexplantaten der diekto- bzw. der mesochimärischen Pflanzenmuster von *Peperomia serpens* lässt auf eine von L2-bürtigem Gewebe gesteuerte Adventivsprossbildung schließen. Da an den meisten distalen Blattstücken der Diektchimäre und der Mesochimäre entsprechend homohistisch grüne (83,60 %) bzw. weiße (86,46 %) Adventivsprosse entstanden. Dabei konnte interpretiert werden, dass eine Beteiligung der L2-bürtigen Gewebe an der Bildung der Adventivsprosse vorlag.

Das Auftreten der grünen Adventivsprosse an distalen Blattexplantaten der Mesochimäre lässt vermuten, dass diese Adventivsprosse L1-bürtig sein könnten. Es ist klar, dass das Modell der Entstehung der Adventivsprosse aus der L1-bürtigen Epidermis bei *Saintpaulia ionantha* (POHLHEIM & POHLHEIM, 1976) nicht auf alle Arten übertragen werden kann. Dass ein Modellsystem wie *Saintpaulia ionantha* nicht generalisiert werden sollte, wird durch die Untersuchungen von POHLHEIM (1985) sowie LÜCKE (1989) deutlich gemacht. Nach POHLHEIM (1985) ist zu vermuten, dass für die L1-bürtigen Adventivsprosse bei der Monoektochimäre von *Peperomia obtusifolia* eine endogene Entstehung vorliegt: „Es ist anzunehmen, dass auch für die von L1 abstammenden Adventivsprosse keine Entstehung aus der Epidermis bzw. aus dem L1-bürtigen Wassergewebe angenommen werden muss“. Querschnitte der Kalli von weißen Blattexplantaten bei der In-vitro-Regeneration könnten durch die Betrachtung der ersten Zellteilungsorte eine günstige Möglichkeit ergeben, um diese Hypothese zu verifizieren.

Die Blattregenerationsergebnisse bei den Diekto- und Mesochimären von *Peperomia serpens* zusammen betrachtet zeigen, dass isolierte Blattstücke und achselknospenfreie Sprosse sowohl L1-, L2- als auch L3-bürtige Adventivsprosse bilden. Die Mehrheit der Adventivsprosse stammt dabei zweifelsfrei von der L3-bürtigen Mesophyllschicht ab, während L1- und L2-bürtige Adventivsprosse weniger gebildet werden. Der kleine Prozentsatz (durchschnittlich 0,80 %) der Neubildungen von Heterohistonten bei der Adventivprossbildung zeigt, dass bei *P. serpens* die Adventivsprosse in geringem Umfang auch einen mehrzelligen Ursprung haben können. Die Adventivprossbildung bei *Peperomia serpens* wird nicht von der genetischen Herkunft der tiefer liegenden Gewebe des Blattes, sondern von dem Anlageort der abstammenden Gewebe gesteuert.

Parallel zur Erdkultur wurden Explantate aus dem Blattrandbereich und dem Binnenfeld auf ihre Eignung für die In-vitro-Kultur hin untersucht, um die Möglichkeiten an Regenerationsversuchen zu erweitern. Die Ergebnisse der In-vitro-Regenerationsversuche an Blattexplantaten (Blattrand- und Binnenfeldexplantaten) von zwei Periklinalchimären von *Peperomia serpens* schienen zunächst eine ganz andere Interpretation zu erfordern als bei den In-vivo-Blattregenerationsversuchen, da die Blattregenerationsergebnisse andere Prozentsätze der homohistischen Adventivsprosse zeigten.

Die Auswertung des In-vitro-Regenerationsversuches bei der chimärischen Weißkern- und Weißrandform von *Peperomia serpens* ergab, dass die meisten Blattexplantate neben zahlreichen homohistisch grünen auch weiße Adventivsprosse bildeten. Heterohistische Adventivsprosse konnten nicht festgestellt werden. An allen Blattexplantaten regenerierten durchschnittlich 67,84 % der Adventivsprosse. In der Mehrzahl entmischten aus Binnenfeldexplantaten der Diektochimäre homohistisch grüne (78 %) neben einer geringen Anzahl homohistisch weißer (22 %) Adventivsprosse. An den Blattrand- und Binnenfeldexplantaten der Diekto- bzw. Mesochimären regenerierten nur grüne Adventivsprosse (100 %). Wie die Ergebnisse bei den weißen Blattrandexplantaten zeigten, bildeten sich homohistisch grüne (81,39 %) und homohistisch weiße Adventivsprosse.

Das Entstehen der homohistisch grünen und homohistisch weißen Adventivsprosse zeigt, dass sie sich aus Abkömmlingen einer einzelnen Sprossscheitelschicht bildeten. Die Prozentsätze der grünen bzw. der weißen Adventivsprosse in der gesamten Regeneration zeigen die große Konkurrenzfähigkeit der Abkömmlinge von der L3-Sprossscheitelschicht in der Adventivsprossbildung bzw. in der Mesophyllbildung. Die große Anzahl grüner Adventivsprosse bei den Blattrand- und Binnenfeldexplantaten der Meso- bzw. Diektchimäre ist ein Hinweis auf eine mögliche Adventivsprossbildung aus L1-bürtigem Gewebe. Eine Abstammung aus der L1-bürtigen Epidermis ist unwahrscheinlich, und es ist deswegen anzunehmen, dass aus weißen Blattexplantaten abstammende grüne Adventivsprosse einen endogenen Ursprung (Hypoderm) haben.

In den letzten Jahren gab es ausführliche Diskussionen zum Ursprung von L1-bürtigen Adventivsprossen mit unterschiedlichen Auffassungen. An zahlreichen Beispielen wurde demonstriert, dass die L1-bürtigen Adventivsprosse am Blatt nicht immer von der Epidermis, sondern manchmal auch von inneren Geweben (endogen) gebildet werden. Histogenetische Untersuchungen von KAUFHOLD (1983) zur Sprossbildung bei der Zuckerrübe (*Beta vulgaris* L.) wiesen darauf hin. Auch in der Folge sprach eine Reihe von Untersuchungen im Zusammenhang mit der Blattregeneration für die endogene Entstehung der L1-bürtigen Adventivsprosse, z. B. bei *Peperomia glabella* (BERGANN & BERGANN, 1982), *Peperomia obtusifolia* (BERGANN & BERGANN, 1982; POHLHEIM, 1985 und LÜCKE, 1989), *Sansevieria trifasciata* (MARCOTRIGIANO & MORGAN, 1988 und LÜCKE, 1989) und *Peperomia scandens* (BERGANN & BERGANN, 1982 und LÜCKE, 1989). Man kommt der Verifikation dieser Hypothese näher, wenn man die Gewebeschichten betrachtet, an denen die Adventivsprosse an Binnenfeld- und Blattrandexplantaten der Diekto- bzw. Mesochimäre austreiben. Bei histologischen Untersuchungen an Querschnitten von zwei Wochen alten Kalli von Blattexplantaten konnte die Schicht, in der die Zellteilung beginnt, festgestellt werden.

Die Ergebnisse der histologischen Untersuchungen zum Bau des Kallus machen deutlich, dass die ersten Zellteilungen hauptsächlich im idiotypisch grünen, L1-bürtigen Hypoderm auftraten. Es ist auch zu beobachten, dass perikline Zellteilungen im Hypoderm stattfanden. Diese Ergebnisse bestätigen eindeutig die Auffassungen von BERGANN & BERGANN (1982), POHLHEIM (1985) und LÜCKE (1989) über eine endogene Adventivsprossbildung bei den Arten von *Peperomia*. Sind die zuerst differenzierte Gewebeschicht und die Struktur der Mehrzahl der Adventivsprosse bekannt, könnte ein geeignetes Gewebekonkurrenzverhalten bei der In-vitro-Blattregeneration als Modell erstellt werden.

Die Entmischung ist für Chimären ein typisches Merkmal. Liegt eine Periklinalchimäre vor, kann das Muster *in vivo* oder *in vitro* entmischt werden. Auf Grund der Ergebnisse der Blattregenerationsversuche an Periklinalchimären von *Peperomia serpens* unterscheidet sich die In-vitro-Entmischung von der In-vivo-Entmischung in der Quantität jedes Adventivprosstyps. Deshalb muss bei der Interpretation der In-vitro-Adventivsprossbildung das Blattregenerationsmedium berücksichtigt werden, weil es außer den normalen Nährstoffen eine Menge von Wuchsstoffen enthält.

Der Einfluss der Wuchsstoffe auf die Induktion von Adventivsprossen ist damit aber nicht zu erklären. Es ist dennoch wichtig, diese Frage zu diskutieren. Interessante Ergebnisse beim In-vitro-Versuch mit *Pyrus communis* L. bei Vermehrung einer Diektochimäre ‘GGW’ erhielten ABU-QA- OUD, SKIRVIN & CHEVREAU (1990). Während der In-vitro-Kultivierung von halbierten Blättern dieser Diektochimäre auf phytohormonhaltigem Nährmedium (Wirkung der Cytokinine auf den Regenerationsprozess) konnte nur die Bildung einer Mehrzahl homohistisch grüner Adventivsprosse und einer kleinen Anzahl homohistisch weißer Austriebe induziert (Entmischung) und nachgewiesen werden. ABU-QA OUD, SKIRVIN & CHEVREAU (1990) zeigten, dass eine große Konzentration von Cytokinin im Regenerationsnährmedium zu einer totalen Entmischung der chimärischen Pflanze führen kann. Bei der Interpretation der Untersuchungen zur Wirkung der Cytokinine auf den Regenerationsprozess sind ABU-QA OUD, SKIRVIN & CHEVREAU (1990) zu der Überzeugung gelangt, dass eine hohe Konzentration von Cytokinin im Nährmedium vermieden werden muss, um eine chimärische Pflanze *in vitro* zu erhalten. Diese von ABU-QA OUD, SKIRVIN & CHEVREAU (1990) vertretene Ansicht wurde durch den vorliegenden In-vitro-Regenerationsversuch bestätigt, da in der vorliegenden In-vitro-Regeneration bei *P. serpens* Kinetin und Adeninsulfat als Cytokinine verwendet wurden und kein heterohistischer Adventivspross (Chimäre) gebildet wurde.

Es steht fest, dass Cytokinine die Zellteilung, die Differenzierung der Plastiden, die Achselknospenbildung und die Entwicklung des Leitungsgewebes, der Blüten, Früchte und Samen fördern. Außerdem können sie die Apikaldominanz brechen und die Seneszenz verzögern (BECK, 1999; GALUSZKA, FRÉBORT, ŠEBELA, STRNAD & PEC, 1999; SCHMÜLLING, RUPP, FRANK & SCHÄFFER, 1999 und VANKOVÁ, 1999). MARCOTRIGIANO (1986) hat die Bedeutung von Cytokinin bei der Adventivsprossbildung an Blättern verschiedener *Nicotiana*-Chimären hervorgehoben. Er stellte fest, dass die Adventivsprossbildung bei der In-vitro-Regeneration von zusätzlich zugegebenen Cytokinin abhängt und vom Typ der Cytokinine beeinflusst werden kann. Es ist anzunehmen, dass die zuerst geteilte Initialzelle die Konstitution der meisten Adventivsprosse bestimmt. Wahrscheinlich spielen die Cytokinine in der In-vitro-Blattregeneration von *Peperomia serpens* eine große Rolle bei der Verdrängung des ersten Zellteilungsortes, da die L3-bürtige Gewebeschicht bei der Erdkultur kompetent und wahrscheinlich der erste Zellteilungsort ist. Bei der In-vitro-Regeneration konnte sich das L1-bürtige Hypoderm durch eine perikline Zellteilung an der Bildung der Adventivsprosse beteiligen. Die Blattregenerationsergebnisse bei *Peperomia serpens* demonstrieren deutlich, dass sich alle genetisch verschiedenen L1-, L2- und L3-Sprossscheitelschichten an der Blattmesophyllbildung beteiligen können und dass die Adventivsprosse ihren Ursprung in einer oder mehreren Gewebeschichten haben können.

4.3.2 Zur Adventivsprossbildung bei *Sedum rubrotinctum*

Bei der Literaturrecherche wurde deutlich, dass die Problematik der Blattregeneration bei den Periklinalchimären von *Sedum rubrotinctum* bisher kaum bearbeitet wurde. Die vorliegenden Blattregenerationsergebnisse können ausschließlich mit Resultaten von BERGANN & BERGANN (1984b) verglichen werden. Mit den Regenerationsversuchen zur Entmischung bzw. Umlagerung des

Sprossscheitels werden im Allgemeinen zwei Ziele verfolgt: zum einen dienen sie dem Nachweis eventuell vorliegender Chimären, zum anderen aber auch der Erzielung neuer Formen aus Chimären auf vegetativem Wege. Welche Möglichkeiten der züchterischen Praxis durch Anwendung geeigneter Entmischungs- und Umlagerungsmethoden in die Hände gegeben sind, lässt sich dadurch zeigen, dass eine einzige Mutation, die sich in einer Initialschicht des in der Regel aus drei Initialschichten bestehenden Sprossscheitels manifestiert hat, die Umlagerung bzw. Entmischung verschiedener Formen zulässt (BERGANN & BERGANN, 1984b)

Die Auswertung des Regenerationsversuches bei der Diektchimäre ‘GGW’ ergab, dass an den meisten Blattstecklingen homohistisch grüne Adventivsprosse entstanden (95,83 %). Außerdem bildeten sich an einigen Blattstecklingen nur weiße (3,09 %) oder nur variegata (1,08 %) Adventivsprosse. Die Ergebnisse zum Blattstecklingsregenerationsversuch mit der Weißrandform zeigen, dass an den Blattstecklingen neben zahlreichen homohistisch weißen (86,31 %) auch homohistisch grüne (7,66 %) und variegata (6,03 %) Sprosse regenerierten. Der Regenerationsindex homohistisch grüner, weißer und variegater Adventivsprossbildung stimmt etwa mit dem Regenerationsindex homohistisch grüner, weißer und variegater Regenerate überein, der von BERGANN und BERGANN (1984b) bei Blattstecklingsversuchen mit demselben Pflanzenmaterial erhalten wurde. Auf dem Weg der In-vivo-Regeneration am Blatt werden also stets neue Scheitel konstituiert, und bei dieser Neubildung geht stets die Konstitution der Chimären verloren. Die variegaten Adventivsprosse mit ihren mosaikartigen Färbungen der Blätter stellen offensichtlich sektorale Chimären dar.

Das Entstehen der homohistisch grünen und homohistisch weißen Adventivsprosse zeigt, dass sie sich aus Abkömmlingen einer einzelnen Sprossscheitelschicht bildeten. Vergleicht man die Häufigkeit der verschiedenartigen Adventivsprosse an Blättern von der Weißkern- und Weißrandform im Einzelnen miteinander, so fällt bei der Weißrandform die hohe Rate rein weißer und variegater Regenerate gegenüber den rein grün erscheinenden unmittelbar ins Auge. Dagegen wurden bei der Weißkernform überwiegend rein grün erscheinende Regenerate und nur ganz wenige weiße oder variegata gebildet. Das bedeutet, dass in den Regenerationsversuchen das L3-bürtige Gewebe der Periklinalchimären nur relativ selten in den Prozess der Adventivspross- und Mesophyllbildung einbezogen wurde. Aus diesen Regenerationsergebnissen lässt sich die entscheidende Rolle der Abkömmlinge von der L2-Sprossscheitelschicht bei der Adventivsprossbildung ablesen. Aus der Neuentstehung der Heterohistonten (variegater Adventivsprosse) wird interpretiert, dass an der Adventivsprossbildung jeweils Abkömmlinge von mehr als einer Sprossscheitelschicht beteiligt sind. Die Blattregenerationsergebnisse machen deutlich, dass die Ausgangspflanzen Periklinalchimären sind und dass der Anlageort der Initialzellen entscheidender als die genetische Konstitution ist.

Wenn das L2-bürtige Gewebe eine derartig große Kompetenz in der Adventivsprossbildung hat, indem es in so hohen Prozentsätzen in die neuetablierten Scheitel eingeht, dann erhebt sich die Frage, welche anderen Schichten in den neuen Sprossscheitel und bei der Anlegung der variegaten

Blätter bevorzugt in die Primordienbildung mit einbezogen werden, L1 oder L3, die bei der Weißrandform beide grün sind.

Das vorliegende Resultat bekräftigt die von BERGANN und BERGANN (1984b) an demselben Objekt gefundenen Ergebnisse. Die Feststellung von BERGANN und BERGANN (1984b), dass keine der drei Scheitelschichten (L1, L2 und L3) prinzipiell von der Beteiligung an der Sprossbildung am isolierten Blatt ausgeschlossen werden kann und dass neben L2 und L1 auch noch L3 in der Lage ist, in die Regenerate einzutreten, ist in der vorliegenden Untersuchung teilweise bestätigt. Die weißen Adventivsprosse an den Blättern der Weißkernform deuten auf eine Beteiligung der L3-bürtigen Gewebeschicht. Für eine mögliche Beteiligung des L1-bürtigen Gewebes sprechen die grünen und die variegaten Adventivsprosse an den Blättern der Weißrand- bzw. Weißkernform, da sie grüne Epidermen besitzen. Die von den mesochimärischen Blättern abstammenden variegaten Adventivsprosse lehnen diese Hypothese über die Beteiligung des L1-bürtigen Gewebes an der Bildung der Adventivsprosse ab, da sie weiße Epidermen haben. Es wird angenommen dass die von periklinalchimärischen Blättern abstammenden Adventivsprosse aus dem Blatt entstehen, das von L1, L2 und L3 gebildet wurde. Man kommt der Lösung dieser Frage näher, wenn man die Stelle der Spreitenbasis betrachtet, an der die Sprosse entspringen.

Bei histologischen Untersuchungen am Längsschnitt der Spreitenbasis drei Wochen alter Adventivsprosse konnte die Schicht, in der die Zellteilung sich hauptsächlich manifestiert und die Beteiligung von Abkömmlingen der Sprossscheitelschichten an der Adventivsprossbildung festgestellt werden. Histologische Untersuchungen an Anlageorten der *Sedum*-Adventivsprosse ergaben, dass bei allen untersuchten (grüne aus 'GGW', weiße aus 'GWG' und variegata aus 'GWG') Adventivsprossen eine große mitotische Aktivität im L2-bürtigen Gewebe des Blattes vorliegt.

Diese Untersuchungen zeigten, dass im Anlageort L1-bürtiges Gewebe unaufgespalten L2-bürtiges bedeckt. Damit kann man bzgl. der Sprossregeneration an Blättern der Periklinalchimären von *Sedum rubrotinctum* festhalten, dass ein L3-bürtiger Gewebekern schließlich von einem L2-bürtigen Gewebemantel umgeben ist, während die L1 nach wie vor auf die Bildung der Epidermis beschränkt ist. Das spricht dafür, dass die Bildung der variegaten Adventivsprosse durch eine gemeinsame Beteiligung der L2- und L3-Sprossscheitelschichten hervorgerufen wird. Dazu kann interpretiert werden, dass die vom Blatt gebildeten Adventivwurzeln, wie in zahlreichen anderen Fällen vegetativer Vermehrung aus Blättern höherer Pflanzen, ebenfalls L3-bürtig sind.

4.4 Zur Gewebekonkurrenz von Ploidiechimären

In den Abschnitten 4.2 und 4.3 sind quantitative Musteranalysen des Blattmesophylls bei *Sedum rubrotinctum*, *Pedilanthus tithymaloides* und *Peperomia serpens* und die quantitativen Analysen der Sprossvariation bei Adventivsprossbildung bei *Sedum rubrotinctum* und *Peperomia serpens* besprochen worden. Dabei wurde auch die Frage zur Gewebekonkurrenz diskutiert, weil davon abhängt, auf welche Art und Weise sich somatische Variabilität etabliert. Um Aussagen über die

Gewebekonkurrenz im Blattmesophyll treffen zu können, ist es von Vorteil, für die Scheitelschichten eine über die Ontogenese verfolgbare doppelte Markierung zu haben. Eine eindeutige Möglichkeit ist dabei beispielsweise die Erhöhung des Ploidiegrades einer Scheitelschicht. Mit dem Ziel, die Ploidiestufe einer der internalen Sprossscheitelschichten zu erhöhen, wurde eine Kolchizinapplikation vorgenommen.

4.4.1 Ploidienachweise

Um die Ploidiestufe einer Pflanze bzw. von Geweben zu bestimmen, ist die Chromosomen-Zählung der direkteste Weg. So gängig diese Methode ist (GEITLER, 1949), unterliegt sie aber zum Teil erheblichen Einschränkungen: Nicht bei allen Pflanzen glückt die Präparation nach herkömmlichen Quetschmethoden von Wurzelspitzen (ROMEIS & AL, 1989). Werden Wurzelspitzen genutzt, gewinnt man in der Regel lediglich eine Aussage zum Ploidiegrad der dritten Scheitelschicht aufgrund der endogenen Anlage von Stecklingswurzeln. Wegen der aufgeführten Schwierigkeiten bei der Chromosomenzählung haben sich eine Reihe von indirekten Untersuchungsmethoden als brauchbar erwiesen, die alle auf der Grundlage basieren, dass höherploidie Gewebe im Bereich bis zu ihrem Ploidieoptimum größere Zellen besitzen. Kennt man die Herkunft dieser messbaren, ausdifferenzierten Zellen, kann man Rückschlüsse auf die zugehörige Scheitelschicht ziehen. Die Anwendung der indirekten Bestimmungsmethoden zur Ploidie hat zuallererst den Vorteil, leicht und technisch sowie zeitlich handhabbar zu sein. Zytologisch und histologisch wurden ausgehend vom unterschiedlichen Phänotyp der Varianten die Größe von Schließzellen, von Zellen des Blattmesophylls und von Zellkernen der Sprossscheitelschichten gegenübergestellt sowie Unterschiede in den Zellformen untersucht. Daraus gewonnene Ergebnisse stimmen miteinander überein.

Bei den GGW- und GWG-Pflanzen (Diekto- und Mesochimären) von *Plectranthus coleoides* konnte der chimärische Ursprung des Blattmusters durch die ‘doppelte Markierung’ von Sprossscheitelschichten und den davon abstammenden Geweben nachgewiesen werden. Nach Kolchizinierung des weißkernigen *Plectranthus coleoides* entstand eine Ploidiechimäre (4-4-2), so dass bei diesem Pflanzenmuster chlorophyllintakte Gewebe gleichzeitig einen höheren Ploidiegrad besitzen. Im Ergebnis der Kolchizinbehandlung bei der Weißrandform von *Plectranthus coleoides* entstand eine andere Ploidiechimäre (2-2-4), so dass bei dieser Variante nur das L3-bürtige Gewebe mit Chloroplasten einen höheren Ploidiegrad besitzt.

Die Gegenüberstellungen zeigten, dass die GGW-Ploidiechimäre ‘TTD’ deutlich von der normalen GGW-Chimäre zu unterscheiden ist (Abb. 62). Anhand der hier dargestellten Ergebnisse der Untersuchungen zur Ploidiebestimmung wird deutlich, dass die Befunde an der Variante ‘GWG’ denen in umgekehrter Weise bei der Weißkernform entsprechen und damit die GWG-Ploidiechimäre als ‘DDT’ interpretiert werden kann (Abb. 62). Beim Vergleich der Sprossscheitellängsschnitte und der Blattquerschnitte von GGW/TTD- und GWG/DDT-Ploidiechimären konnte festgestellt werden, dass Größenunterschiede in der Stärke der Sprossscheitelschichten und der abstammenden Mesophyllschichten deutlich erkennbar sind (Abb. 51, 52, 55 und 56). Verschiede-

ne Ploidiechimären (GGW/TTD- und GWG/DDT) konnten nach diesem Kolchizinversuch selektiert werden und dienten als Pflanzen mit doppelter Schichtenmarkierung dem Nachweis der Gewebekonkurrenz.

4.4.2 Quantitative Musteranalysen des Blattmesophylls der Ploidiechimären

Anhand der Stärke der Mesophyllschichten in den Laubblattbinnenfeldern und des Hintergrundwissens über ihre Scheitelkonstitutionen (Farbmarkierung und Ploidiegrad) lassen sich Überlegungen zur Gewebekonkurrenz anstellen:

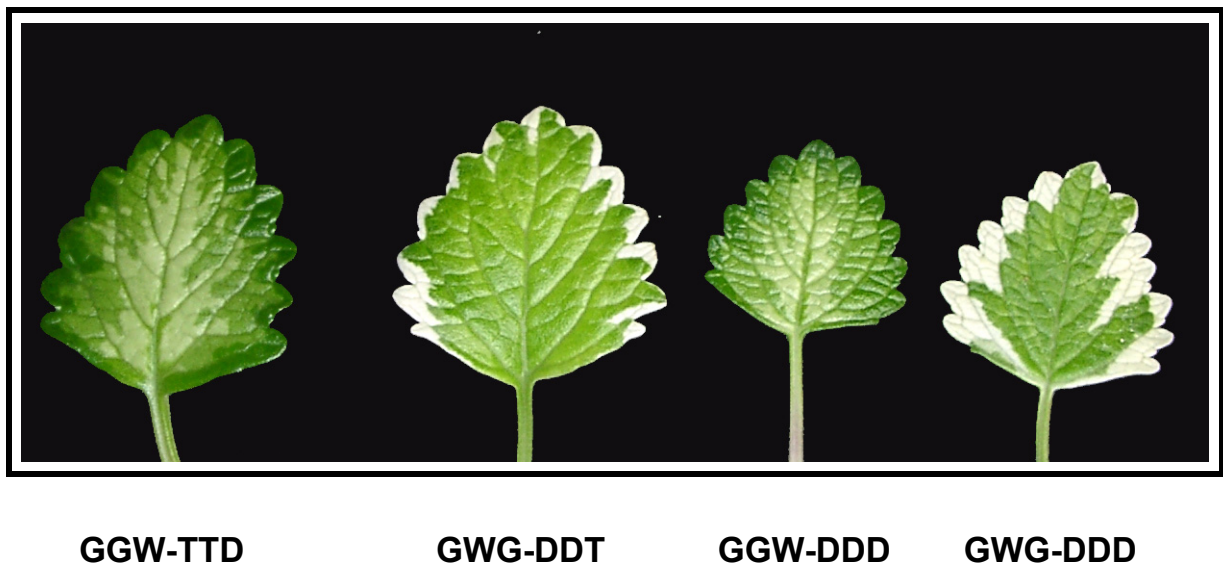


Abb. 62: Vergleich der Laubblätter von normalen und ploidiechimärischen *Plectranthus*-Pflanzen

Die polyploidisierte L2 führt bei GGW/TTD (im Vergleich zu GGW/DDD) zur Vergrößerung der grünen Sektoren durch stärkere Beteiligung dieser Scheitelschicht am Randmesophyll des Laubblattes. Ist nur die dritte Scheitelschicht polyploid (GWG/DDT im Vergleich zu GWG/DDD), kehrt sich dieser Effekt um, die weißen Blattränder bei GWG/DDT sind auffällig schmal. Bei den beiden Ploidie-Homohistonten GGW/DDD und GWG/DDD bleibt das Flächenverhältnis grün:weiß ungefähr gleich. Für die Analyse der Gewebekonkurrenz im Blattmesophyll zwischen tetraploidem und diploidem Gewebe sind die Größenverhältnisse farbmarkierter Gewebeschichten von besonderem Interesse.

Die Vergleichsergebnisse verdeutlichen den Unterschied zwischen tetraploiden und diploiden Mesophyllschichten (L2-GGW/TTD und L2-GWG/DDT; L3-GGW/TTD und L3-GWG/DDT) in der Querschnittshöhe. So sind die tetraploiden Gewebeschichten (L2-GGW/TTD: 440,8 μm ; L3-GWG/DDT: 404,3 μm) in allen Fällen dreimal größer als die diploiden Mesophyllschichten (L3-GGW/TTD: 139,8 μm ; L2-GWG/DDT: 146,0 μm).

Tetraploides Gewebe scheint bei *Plectranthus* diploidem gegenüber bevorteilt zu sein, was offenbar nicht durch eine höhere Teilungsfrequenz (im Gegenteil: bei tetraploidem Gewebe verlangsamt sich die Teilungsgeschwindigkeit: SCHEIBE, 1951; SCHMALZ, 1989), sondern allein durch die größeren Zellen, die pro Zeiteinheit größere Volumina ergeben, bedingt ist. Neben dieser Ursache sind auch veränderte Druckverhältnisse bei Ploidiechimären als Grund für mögliche veränderte Teilungsmodi denkbar (KNY, 1902 und LINTILHAC, 1974). Ebenfalls sollte beachtet werden, dass ein Optimum für die Ploidiestufe existiert, welches artspezifisch ist (SCHMALZ, 1989). Höherploide Scheitelschichten haben deshalb nicht unbedingt einen erhöhten Gewebeanteil an den Organen.

Mit diesen Werten der Mesophyllschichtenhöhen haben die Unterschiede ihre Ursache im Sinne einer Gewebekonkurrenz aufgrund verschiedener Ploidiestufen und sind nicht lagebedingt. Es ist auch anzunehmen, dass die Farbmarkierung mehr oder weniger das Konkurrenzverhalten der Mesophyllgewebe beeinflussen kann (diese Ansicht setzt die Hypothese voraus, dass der Farbeffekt nicht von der Ploidiestufe abhängig ist).

Ein lohnendes Untersuchungsgebiet über Gewebekonkurrenz wäre die aus der Kolchizinbehandlung hervorgegangenen Laubblattvarianten *in vitro* zu kultivieren. Um die Grundlagen zur Gewebekonkurrenz genau herauszufinden, müssen an den daraus entstandenen Kalli histogenetische Untersuchungen durchgeführt werden. Für die *Plectranthus coleoides* konnte über 'doppelte Markierung' der Sprossscheitelschichten eindeutig der Chimärennachweis der Blattmusterung erbracht werden. Außerdem konnte durch die doppelte Markierung eine L1-Beteiligung an der Mesophyllbildung ausgeschlossen werden, da nur die zusätzlich markierten L2- und L3-bürtigen Zellen in den Mesophyllen zu finden sind.

Die Ploidiemarkierung einzelner Schichten ausgesuchter Typen der Laubblattvarianten und eventuell flow-cytometrische Untersuchungen würden hier eine sinnvolle Vergleichsebene schaffen, um Gewebekonkurrenz weiter zu charakterisieren (ZONNEVELD & VAN IREN, 2000).

5 Zusammenfassung

♣ Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit ist die quantitative Analyse der Beteiligung genetisch verschiedener internaler Sprossscheitelschichten (L2, L3, L4,...) sowie Untersuchungen zum Konkurrenzverhalten dieser Schichten bei der Blattmesophyllbildung am Beispiel zweier variegater Formen von *Peperomia serpens*, *Sedum rubrotinctum*, *Pedilanthus tithymaloides* und *Plectranthus coleoides*. Für die quantitative Analyse der Beteiligung genetisch verschiedener Sprossscheitelschichten an der Blattmesophyllbildung sind zunächst Kenntnisse zum Bau des Sprossscheitels des untersuchten Materials eine Grundlage, um festzustellen, inwieweit Sprossscheitel aus selbstständigen Schichten aufgebaut sind. Weiterhin können die Untersuchungen der Blattanatomie, speziell des Blattmesophylls beitragen, die chimärische Natur von Pflanzen nachzuweisen.

Es wurden die Anzahl der Sprossscheitelschichten und ihre Beteiligung an der Blattbildung untersucht. Bei der Weißbrand- und Weißkernform von *Peperomia serpens*, *Sedum rubrotinctum* und *Plectranthus coleoides* treten jeweils die drei Sprossscheitelschichten (L1, L2 und L3) in das Blatt ein. Im Sprossscheitel wurden bei den beiden variegaten Formen von *Pedilanthus tithymaloides* nach histogenetischen Untersuchungen drei (L1, L2 und L3) von vier vorhandenen Sprossscheitelschichten (L1, L2, L3 und L4) als Initialen erkannt. Durch histogenetische Untersuchungen zur Blattanatomie gelang es, die acht untersuchten variegaten Muster von *Peperomia serpens*, *Sedum rubrotinctum*, *Pedilanthus tithymaloides* und *Plectranthus coleoides* in vier diektchimärische (Grün-Grün-Weiß) und vier mesochimärische (Grün-Weiß-Grün) Musterpflanzen nachzuweisen.

♣ Die Untersuchungen umfassten folgende Schwerpunkte:

- das Entwickeln einer Methode zur Quantifizierung der unterschiedlich großen Mesophyllgewebe beider periklinalchimärischer Formen
- Blattregenerationsversuche bei *Peperomia serpens* und *Sedum rubrotinctum* zur Quantifizierung entstehender grüner, weißer und chimärischer Adventivsprosse sowie die Deskription der Unterschiede, die dabei zwischen beiden Musterpflanzen von *Peperomia serpens* bzw. von *Sedum rubrotinctum* auftreten
- histogenetische Untersuchungen des Anlageortes der Adventivsprosse vor der Regeneration

♣ Quantitative Untersuchungen von Histogenesevorgängen sollen Aufschluss darüber geben, welche Faktoren ein Konkurrieren genetisch unterschiedlicher Gewebe beim Aufbau von Laubblättern bedingen. Mit Hilfe von Mittelwertvergleichen der Mächtigkeit L2- und L3-bürtiger Mesophyllgewebe wurde die Beteiligung genetisch verschiedener internaler Sprossscheitelschichten an der Bildung des Blattmesophylls bei *Sedum rubrotinctum*, *Pedilanthus tithymaloides* und *Peperomia serpens* erfasst. Neben histologischen Grundlagen (L2- und L3-Sprossscheitelschichten) spielten vor allem die genetische Natur der Sprossscheitelschichten (chlorophyllintakt und chlorophylldefekt) eine bedeutende Rolle bei der Mesophyllbildung. Prävalenzvorgänge zwischen mutierten und chlorophyllintakten Blattmesophyllschichten treten häufig auf. Histogenetische Gründe wurden diskutiert, konnten aber experimentell nie eindeutig belegt werden. Quantitative Analysen der Blattquerschnittflächen und Blattmesophyllhöhen bei Periklinalchimären aus den verschiedensten

Arten ließen keine eindeutigen Beziehungen zu den histologischen Grundlagen erkennen. Dagegen ergaben sich klare Beziehungen zur genetischen Natur der Sprossscheitelschichten. An Modellsystemen konnte gezeigt werden, wie das chlorophyllintakte Gewebe die Blattmesophyllbildung beeinflusst. Es wird eine Hypothese entwickelt, nach der das Konkurrenzverhalten mit der Zelllage (L2- bzw. L3) und mit dem Chlorophylldefekt gekoppelt ist. Ein Blattregenerationsversuch, bei dem die Blätter der Periklinalchimären (Diekto- bzw. Mesochimäre) auf ihren L2- bzw. L3-Bereich reduziert werden, könnte hier genauere Aussagen erlauben.

♣ Es wurden Regenerationsversuche an Blattstecklingen der Diekto- und Mesochimäre von *Peperomia serpens* und *Sedum rubrotinctum* durchgeführt. Durch In-vivo-Provozierung von Adventivsprossen an Blattstücken und achselknospenfreien Sprossen gelingt es, die zwei untersuchten heterohistischen Musterpflanzen von *Peperomia serpens* ('GGW' und 'GWG') in grüne und weiße Nachkommen zu zerlegen. An Blattstecklingen der Diektochimäre bildeten sich in der Mehrzahl homohistisch weiße und weniger homohistisch grüne Adventivsprosse. An Blattstecklingen der Mesochimäre entstanden zum großen Teil homohistisch grüne und weniger homohistisch weiße Adventivsprosse. Neben homohistischen Adventivsprossen bei beiden Musterpflanzen wurden auch heterohistische Adventivsprosse beobachtet (nur an Stecklingen achselknospenfreier Sprosse). Die Regenerationsergebnisse verweisen auf eine vorwiegend L3-bürtige Entstehung von Adventivsprossen an Blattstecklingen. Die Neubildungen von Heterohistonoten bei der Adventivsprossbildung zeigen, dass bei *P. serpens* die Adventivsprosse einen mehrzelligen Ursprung haben können.

♣ Parallel zur Erdkultur wurden Explantate aus dem Blattrandbereich und dem Binnenfeld auf ihre Eignung für die In-vitro-Kultur untersucht, um die Möglichkeiten an Regenerationsversuchen zu erweitern. Die Auswertung des In-vitro-Regenerationsversuches bei der chimärischen Weißkern- und Weißrandform von *Peperomia serpens* ergab, dass die meisten Blattexplantate neben zahlreichen homohistisch grünen auch weiße Adventivsprosse bildeten. Heterohistische Adventivsprosse konnten nicht festgestellt werden. Das Entstehen der homohistisch grünen und homohistisch weißen Adventivsprosse zeigt, dass sie sich aus den Abkömmlingen einer einzelnen Sprossscheitelschicht bildeten. Die Prozentsätze der grünen bzw. der weißen Adventivsprosse in der gesamten Regeneration zeigen die große Kompetenz der L3-bürtigen Gewebeschicht in der Adventivsprossbildung bzw. in der Mesophyllbildung. Die große Anzahl grüner Adventivsprossen bei den vier Varianten ist ein Hinweis auf eine mögliche Adventivsprossbildung aus L1-bürtigem Gewebe.

♣ Histologische Untersuchungen der Kalli sollten Erkenntnisse über den Anlageort der Adventivsprosse vor der Regeneration erbringen. Die Ergebnisse machen deutlich, dass die ersten Zellteilungen hauptsächlich im idiotypisch grünen, L1-bürtigen Hypoderm auftraten. Es ist auch zu beobachten, dass perikline Zellteilungen im Hypoderm stattfanden. Damit ist nachgewiesen, dass die L1-Sprossscheitelschicht durch das Hypoderm an der Blattmesophyllbildung bei *Peperomia serpens* beteiligt ist.

Die Blattregenerationsergebnisse bei *Peperomia serpens* demonstrieren deutlich, dass sich alle genetisch verschiedenen L1-, L2- und L3-Sprossscheitelschichten an der Blattmesophyllbildung beteiligen können und dass die Adventivsprosse ihren Ursprung in einer oder mehreren Gewebeschichten haben können.

♣ Die Auswertung des Regenerationsversuches bei der Diektochimäre von *Sedum rubrotinctum* ergab, dass an den meisten Blattstecklingen homohistisch grüne Adventivsprosse entstanden (95,83%). Außerdem bildeten sich an einigen Blattstecklingen weiße (3,09%) oder variegata (1,08%) Adventivsprosse. Die Ergebnisse zum Blattregenerationsversuch mit der Mesochimäre zeigen, dass an den Blattstecklingen neben zahlreichen homohistisch weißen (86,31%) auch homohistisch grüne (7,66%) und variegata (6,03%) Sprosse regenerierten. Aus diesen Regenerationsergebnissen lässt sich die entscheidende Rolle der L2-bürtigen Mesophyllschicht bei der Adventivsprossbildung ablesen. Das Entstehen der homohistisch grünen und weißen Adventivsprosse zeigt, dass sie sich aus den Abkömmlingen einer einzelnen Sprossscheitelschicht bildeten. Aus der Neuentstehung der Heterohistonten (variegater Adventivsprosse) wurde vermutet, dass an der Adventivsprossbildung jeweils Abkömmlinge von mehr als einer Sprossscheitelschicht beteiligt sind.

♣ Histologische Untersuchungen der Spreitenbasen von *Sedum rubrotinctum* sollten Erkenntnisse über den Anlageort der Adventivsprosse vor der Blattregeneration erbringen. Die Untersuchungen an Anlageorten der *Sedum*-Adventivsprosse ergaben, dass bei allen untersuchten (grüne aus 'GGW', weiße aus 'GWG' und variegata aus 'GWG') Adventivsprossen eine große Zellteilungssaktivität in dem L2-bürtigen Gewebe des Blattes vorliegt. Dies zeigte, dass im Anlageort L1-bürtiges Gewebe unaufgespalten L2-bürtiges bedeckt. Damit kann man bzgl. der Sprossregeneration an Blättern der Periklinalchimäre von *Sedum rubrotinctum* festhalten, dass ein L3-bürtiger Gewebekern schließlich von einem L2-bürtigen Gewebemantel umgeben ist, während von L1 abstammende Zellen nach wie vor auf die Bildung der Epidermis beschränkt ist. Das spricht dafür, dass die Bildung der variegaten Adventivsprosse durch eine gemeinsame Beteiligung der L2- und L3-bürtigen Gewebe hervorgerufen wird. Bei den Weißrand- und Weißkernchimären von *Sedum rubrotinctum* treten jeweils die zwei internalen Sprossscheitelschichten (L2 und L3) in das Blattmesophyll ein.

♣ Die gesamten Ergebnisse der Untersuchungen zur Blattregeneration bei *Peperomia serpens* und *Sedum rubrotinctum* bewiesen, dass tiefer liegende Gewebe (L2- und L3-bürtige Gewebe) des Laubblattes beider Arten bei der Bildung der Adventivsprosse entscheidender als die L1-bürtige Epidermis sind. Zudem wurde festgestellt, dass das Ausmaß der Beteiligung an der Adventivsprossbildung nicht von der genetischen Herkunft (weiß oder grün) des L2- bzw. L3-bürtigen Gewebes gesteuert, sondern durch die Lage und damit durch die Abstammung der Gewebe aus der entsprechenden Sprossscheitelschicht bestimmt wird.

♣ Um Aussagen über die Gewebekonkurrenz im Blattmesophyll erweitern zu können, ist von Vorteil, eine über die Ontogenese verfolgbare doppelte Markierung für die Scheitelschichten zu

haben. Eine eindeutige Möglichkeit ist dabei die Erhöhung des Ploidiegrades beispielsweise einer Scheitelschicht. Mit dem Ziel, die Ploidiestufe einer der internalen Sprossscheitelschichten zu erhöhen, wurde eine Kolchizinapplikation vorgenommen. Verschiedene Ploidiechimären (GGW/TTD- und GWG/DDT) konnten nach diesem Kolchizinversuch selektiert werden und dienten als Pflanzen mit doppelter Schichtenmarkierung dem Nachweis der Gewebekonkurrenz.

♣ Die polyploidisierte L2 führt bei GGW/TTD (im Vergleich zu GGW/DDD) zur Vergrößerung der grünen Sektoren durch stärkere Beteiligung dieser Scheitelschicht am Randmesophyll des Laubblattes. Ist nur die dritte Scheitelschicht polyploid (GWG/DDT im Vergleich zu GWG/DDD), kehrt sich dieser Effekt um, die weißen Sektoren bei GWG/DDT sind auffällig klein. Bei den beiden Ploidie-Homohistonten GGW/DDD und GWG/DDD bleibt das Flächenverhältnis grün/weiß im Blatt ungefähr gleich. Für die Analyse der Gewebekonkurrenz im Blattmesophyll zwischen tetraploidem und diploidem Gewebe sind die Größenverhältnisse farbmarkierter Gewebeschichten von besonderem Interesse. Die vergleichenden Ergebnisse verdeutlichen den Unterschied zwischen tetraploiden und diploiden Mesophyllschichten (L2-GGW/TTD und L2-GWG/DDT; L3-GGW/TTD und L3-GWG/DDT) in der Querschnittshöhe. Sie zeigen, dass die Unterschiede im Sinne der Gewebekonkurrenz auf die verschiedenen Ploidiestufen und nicht auf die Zelllage zurückzuführen sind.

6 Literaturverzeichnis

- ABU-QAOD, H., R. M. SKIRVIN & E. CHEVREAU. (1990). In Vitro Separation of Chimerical Pears into their Component Genotypes. *Euphytica* 48: 189-196.
- ALTMAN, A. & Y. WASEL. (1997). Biology of Root Formation and Development. Plenum Press, New York.
- APOLLONIO, G., F. SCARAMUZZI & S. D'EMERICO. (1996). Shoot Formation from Leaf Explants and Apical Meristems of *Peperomia obtusifolia* A. Dietr.: Stability of Ploidy Level in their Subcultures. *Adv. Hort. Sci.* 10: 199-224.
- ASSEYEVA, T. (1927). Bud Mutation in the Potato and their Chimerical Nature. *J. Genet.* 19 (1): 1-26.
- BAUR, E. (1909a). Das Wesen und die Erblchkeitsverhältnisse der „Varietates albomarginatae hort.“ von *Pelargonium zonale*. *Zschr. Abst. Vererbungsl.* 1: 330-351.
- BAUR, E. (1909b). Pfropfbastard, Periklinalchimären und Hyperchimären. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* 27: S. 603-605.
- BAUR, E. (1910). Pfropfbastarde. *Biol. Cbl.* 25 (15): 498-515.
- BECK, E. (1999). Toward an Understanding of Plant Growth Regulation: Cytokinins as major Signals for Biomass Distribution. In *Advances in Regulation of Plant Growth and Development*. Peres Publisher, Praha, 1999: 97-110.
- BERGANN, F. (1962). Über histogenetisch bedingte Anomalien bei der generativen Aufspaltung periklinaler Chimären. *Wiss. Z. Päd. Hochsch. Potsdam Math.-Naturw.* 7 (1/2): 87-94.
- BERGANN, F. (1967). Mutations-Chimären: Rohmaterial züchterischer Weiterbehandlung. *Umschau* 24: 791-797.
- BERGANN, F. (1985). Das Studium von Periklinalchimären-eine legitime Methode der Histogenese-forschung (eine Richtigstellung). *Biol. Zbl.* 104: 735-738.
- BERGANN, F. & L. BERGANN. (1960). Über die sogenannte Kräuselkrankheit der Poinsettia und die Beteiligung des „Dermatogens“ bei der Mesophyllbildung. *Flora* 149 (23): 331-344.
- BERGANN, F. & L. BERGANN. (1962). Über Umschichtungen (Translokation) an den Sprossscheiteln periklinaler Chimären. *Züchter* 32: 110-119.
- BERGANN, F. & L. BERGANN. (1982). Zur Entwicklungsgeschichte des Angiospermenblattes. 1. Über Periklinalchimären bei *Peperomia* und ihre experimentelle Entmischung und Umlagerung. *Biol. Zbl.* 101 (4): 485-502.
- BERGANN, F. & L. BERGANN. (1983a). Zur Entwicklungsgeschichte des Angiospermenblattes. 2. Über die Blattmusterbildung bei meso- und diektochimärischen Formen von *Peperomia*-Arten. Insbesondere über die Beteiligung des „Dermatogens“ an der Mesophyllbildung. *Biol. Zbl.* 102 (4): 403-429.

- BERGANN, F. & L. BERGANN. (1983b). Zur Entwicklungsgeschichte des Angiospermenblattes. 3. Über unmaskierte Binnenfelder in den Blattspreiten periklinalchimärer Buntheiten von *Elaeagnus pungens*, *Coprosma baueri*, *Ilex aquifolium*, *Hoya carnosa* und *Nerium oleander*. *Biol. Zbl.* 102 (6): 657-673.
- BERGANN, F. & L. BERGANN. (1984a). Gelungene experimentelle Synthese zweier neuer Pfropfchimären - die Rotdornmispeln von Potsdam: + *Crataegomespilus potsdamiensis* cv. ‚Diekto‘, cv. ‚Monekto‘. *Biol. Zbl.* 103 (3): 283-293.
- BERGANN, F. & L. BERGANN. (1984b). Zur Entwicklungsgeschichte des Angiospermenblattes. 4. Über Periklinalchimären bei *Sedum rubrotinctum* R. T. Clausen. *Biol. Zbl.* 103 (2): 147-171.
- BERGANN, F. & L. BERGANN. (1984c). Zur Entwicklungsgeschichte des Angiospermenblattes. 5. Über die Anlegung von Blättern und Blütenorganen im Lichte klassischer und moderner Histogeneseforschung. *Biol. Zbl.* 103 (6): 655-675.
- BOOM, B. K. (1958). *Sedum rubrotinctum* Clausen cv. ‚Aurora‘ Succulente. *Succulenta* 6: 65-66.
- BOWES, B. G. (1999). A Colour Atlas of Plant Propagation and Conservation. Manson, London.
- BRICAGE, P. (1982). Pigmentation and Soluble Peroxidase Isozyme Patterns of Leaves of *Pedilanthus tithymaloides* L. *variegatus* as a Result of Daily Temperature Differences. *Plant Physiol.* 69: 668-671.
- BROERTJES, C., B. HACCUS & S. WEIDLICH. (1968). Adventitious Bud Formation on Isolated Leaves and its Signification for Mutation Breeding. *Euphytica* 17: 321-344.
- BROERTJES, C. & A. M. v. HARTEN. (1985). Single Cell Origin of Adventitious Bud. *Euphytica* 34: 93-95.
- BURK, L. G., R. N. STEWART & H. DERMEN. (1964). Histogenesis of a Plastid-controlled Chlorophyll Variegation in Tobacco. *Amer. J. Bot.* 51: 713-724.
- BUVAT, R. (1952). Structure, Évolution et Fonctionnement du Méristème apical de quelques Dicotylédons. *Ann. Sci. Nat. (A Bot.)* 11 (13): 199-300.
- BUVAT, R. (1989). Ontogeny, Cell Differentiation and Structure of Vascular Plants. *Springer-Verlag*, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo.
- CASLER, M. D., L. J. GREUB, S. K. CARLSON & M. COLLINS. (1998). Genetic Variation and Selection for Shoot and Rhizome Growth Traits in a Naturalized Quackgrass Population. *Crop Sci.* 38 (6): 1697-1703.
- CLOWES, F. A. L. (1972). Morphogenesis of the Shoot Apex. *Oxford University Press*, London.
- CUSTERS, J. B. M. (1986). Adventitious Shoot Formation on Leaf Cuttings in vivo, a Tool in Horticulture. Ph.D. *Landbouwwuniversiteit te Wageningen*. Wageningen
- DAVE, Y. S. & N. D. PATEL. (1975). Structural Organization of the Shoot Apex and Axillary Bud in Slipper Spurge (*Pedilanthus tithymaloides* Poit.) 1. *Ann. Bot.* 39: 701-705.

- DEBENER, T. (1999). Genetic Analysis of Horticulturally Important Morphological and Physiological Characters in Diploid Roses. *Gartenbauwiss.* 64 (1): 14-20.
- DERMEN, H. (1947). Periclinal Cytochimeras and Histogenesis in Cranberry. *Amer. J. Bot.* 34: 32-42.
- DERMEN, H. (1960). Nature of Plant Sports. *Amer. Hort. Mag.* 39 (3): 123-173.
- DÖRING, H.-P., H. (1999). Clonal Analysis of the Development of the Barley (*Hordeum vulgare* L. Leaf Using Periclinal Chlorophyll Chimeras. *Planta.* 207: 335-342.
- DULIEU, H. (1968). Emploi des Chimères chlorophylliennes pour l'Étude de l'Ontogenie foliaire. *Bull. Sci. Bourgogne* 25: 1-60.
- ESAU, K. (1969). Pflanzenanatomie. *Gustav Fischer*, Jena.
- FLASINSKI, S., S. W. SCOTT, O. W. BARNETT & C. SUN. (1995). Diseases of *Peperomia*, *Impatiens*, and *Hibbertia* Caused by Cucumber Mosaic Virus. *Plant Disease* 79 (8): 843-849.
- FRANÔCA, F., E. L. LAGO & P. D. MARSDEN. (1996). Plants Used in the Treatment of Leishmanial Ulcers Due to *Leishmania (Viannia) Braziliensis* in an Endemic Area of Bahia, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 29 (3): 229-232.
- GALUSZKA, P., I. FRÉBORT, M. ŠEBELA, M. STRNAD & P. PEC (1999). Cytokini oxidase, the Key Enzyme in the Biodegradation of Cytokinins In *Advances in Regulation of Plant Growth and Development*. Peres Publisher, Praha, 1999: 39-48.
- GEIER, T. & R. S. SANGWAN. (1996). Histology and Chimera Segregation Reveal Cell-Specific Differences in the Competence for Shoot Regeneration and *Agrobacterium* I-Mediated Transformation in *Kohleria* Internode Explants. *Plant Cell Reports* 15: 386-390.
- GEITLER, L. (1949). Schnellmethoden der Kern- und Chromosomenuntersuchungen. *Springer-Verlag*, Wien.
- GENEVE, R. L., J. E. PREECE & S. A. MERKLE. (1997). Biotechnology of Ornamental Plants. CAB International, Wallingford.
- GIFFORD JR, E. M. (1954). The Shoot Apex in Angiosperms. *Bot. Rev.* 20 (8): 477-529.
- GLUSCENKO, I. E. (1971). K Voprossu o Prirodi chimernyh Rastenij. In: *Eksperimental'naja biologija sel'skochozjajstvennyh rastenij*. Izd. Kolos, Moskva.
- GUSTINE, D. L. & M. A. SANDERSON. (2001). Quantifying Spatial and Temporal Genotypic Changes in White Clover Populations by RAPD Technology. *Crop Sci.*: 143-148.
- VON GUTTENBERG, H. (1960). Grundzüge der Histogenese höherer Pflanzen 1. Die Angiospermen. In: *Handbuch der Pflanzenanatomie*. Gebrüder Borntraeger, Berlin.
- HAGEMANN, A. (1932). Untersuchungen an Blattstecklingen. *Gartenbauwiss.* 6: 69-195.
- HAGEMANN, R. (1964). Plasmatische Vererbung. In: *Genetik: Grundlagen, Ergebnisse und Probleme in Einzeldarstellungen*. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena.

- HAGEMANN, W. (1960). Kritische Untersuchungen über die Organisation des Sprossscheitels dikotyler Pflanzen. *Österr. Bot. Z.* 107 (3/4): 366-402.
- HAGEMANN, W. (1963). Weitere Untersuchungen zur Organisation des Sprossscheitelmeristems; der Vegetationspunkt traubiger Floreszenzen. *Bot. Jahrb.* 82 (3): 273-315.
- HAGEMANN, W. (1970). Studien zur Entwicklungsgeschichte der Angiospermenblätter. Ein Beitrag zur Klärung ihres Gestaltungsprinzips. *Bot. Jahrb.* 90 (3): 297-413.
- HAKE, S. & N. SINHA. (1991). Genetic Analysis of Leaf Development. *Oxf. Surv. Pl. Molecul. Cell Biol.* 7: 187-222.
- HARRIS, G. P. & E. M. H. HART. (1964). Regeneration from Leaf Squares of *Peperomia sandersii* A. DC: a Relationship between Rooting and Budding. *Ann. Bot.* 28 (111): 509-527.
- HENNY, R. J. (1978). *In vitro* Propagation of *Peperomia* 'Red Ripple' from Leaf Discs. *HortScience* 13 (2): 150-151.
- HOWARD, H. W. (1978). The Contribution of Growing-point Layers L1, L2, and L3 to Potato Leaves. *Potatoe Res.* 21: 31-34.
- JENTSCH, R. (1960). Zur Kenntnis des Sprossvegetationspunktes von *Hippuris* und *Myriophyllum*. *Flora* 149: 307-319.
- JONES, W. N. (1969). Plant Chimeras. *Methuen*, London,.
- JØRGENSEN, C. A. & M. B. CRANE. (1927). Formation and Morphology of *Solanum* chimaeras. *J. Genet.* 18 (2): 247-273.
- KARP, A. (1991). On the current Understanding of somaclonal Variation. *Oxf. Surv. Pl. Molecul. Cell Biol.* 7: 1-58
- KAUFHOLD, M. (1983). Histogenetische Untersuchungen zur Sprossbildung bei der Zuckerrübe (*Beta vulgaris* L.) als Grundlage für mutationszüchterische Arbeiten. Diss. A. *Pädagogische Hochschule Potsdam*. Potsdam.
- KLEIJN, D. & J. VAN GROENENDAEL. (1999). The Exploitation of Heterogeneity by a Clonal Plant in Habitats with Contrasting Productivity Levels. *J. Ecol.* 87: 873-884.
- KLIMASZEWSKA, K. (1979). The regenerative Potential of two Species of *Peperomia* in Tissue Cultures and biological Activity of endogenous growth Regulators. *Acta Hort.* 91: 281-286.
- KLOPFER, K. (1965). Über den Nachweis von drei selbständigen Schichten im Sprossscheitel der Kartoffel. *Z. Pflanzenzüchtg* 53: 67-87.
- KLUGE, M. & I. P. TING. 1978. Crassulean Acid Metabolism. Analysis of an Ecological Adaptation. Springer-Verlag, Berlin.
- KNY, L. (1902). Über den Einfluss von Zug und Druck auf die Richtung der Scheidewände in sich teilenden Pflanzenzellen II. *Jahrb. Wiss.* 31: 391-392.

- KRENKE, N. P. (1947). Khimery rastenii. *Izd-vo Akademii nauk SSSR*, Moskva.
- LE DOUARIN, N. & A. McLAREN. (1984). Chimeras in Developmental Biology. *Academic Press*, London, Orlando.
- LINTILHAC, P. M. (1974). Differentiation, Organogenesis and Tectonics of Cell Wall Orientation. 2. Separation of Stresses in a two Dimentional Model. *Amer. J. Bot.* 61: 135-140.
- LÜCKE, E.-M. (1989). Untersuchungen zur Herstellung und Analyse von Sprossvarianten durch Anwendung der Adventivsprossmethode. Diss. A. *Humboldt-Universität zu Berlin*, Berlin
- LYNDON, R. F. (1998). The Shoot Apical Meristem : Its Growth and Development. Cambridge University Press, Cambridge, U.K. New York.
- MARCOTRIGIANO, M. (1986). Origin of Adventitious Shoots Regenerated from Cultured Tobacco Leaf Tissue. *Amer. J. Bot.* 73 (11): 1541-1547.
- MARCOTRIGIANO, M. (2001). Genetic Mosaics and the Analysis of Leaf Development. *Int. J. Plant Physiol.* 162 (3): 513-525.
- MARCOTRIGIANO, M. & F. R. GOUIN. (1984). Experimentally Synthesized Plant Chimeras. 2. A Comparison of *in vitro* and *in vivo* Techniques for the Production of Interspecific *Nicotiana tabacum* Chimeras. *Ann. Bot.* 54: 513-521.
- MARCOTRIGIANO, M. & P. A. MORGAN. (1988). Chlorophyll-Deficient Cell Lines which are genetically Uncharacterized can be Inappropriate for use as Phenotypic Markers in Developmental Studies. *Amer. J. Bot.* 75 (7): 985-989.
- MCLELLAN, A., D. PRATI, O. KALTZ & B. SCHMID. (1997). Structure and Analysis of Phenotypic and Genetic Variation in Clonal Plants. In: *The Ecology and Evolution of Clonal Plants*. Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands.
- MICHAELIS, P. (1957). Genetische entwicklungsgeschichtliche und cytologische Untersuchungen zur Plasmaverbung 2. Über eine Plastidenmutation mit intracellulärer Wechselwirkung der Plastiden, zu gleich ein Beitrag zur Methodik der Plasmonanalyse und zur Entwicklungsgeschichte von *Epilobium*. *Planta* 50: 60-106.
- MICROSOFT CORP. (2000). Office 2000 Premium. Vers. 9.0. MICROSOFT Corp. Seattle.
- MURASHIGE, T. (1974). Plant Propagation through Tissue Culture. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 25: 135-166.
- MURASHIGE, T. & F. SKOOG. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio-Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
- NAGDA, K. K. & B. DESHMUKH. (1998). Hemagglutination Pattern of Galactose Specific Lectin from *Pedilanthus Tithymaloides* in Diabetes Mellitus. *Indian J. Exper. Biol.* 36 (4): 426-428.
- NAPP-ZINN, K. (1973). Anatomie des Blattes. 2. Blattanatomie der Angiospermen. A. Entwicklungsgeschichtliche und topographische Anatomie des Angiospermenblattes I. In: *Handbuch der Pflanzenanatomie*. Gebrüder Borntraeger, Berlin, Stuttgart.

- NAPP-ZINN, K. (1974). Anatomie des Blattes. 2. Blattanatomie der Angiospermen. A. Entwicklungsgeschichtliche und topographische Anatomie des Angiospermenblattes II. In: *Handbuch der Pflanzenanatomie*. Gebrüder Borntraeger, Berlin, Stuttgart.
- NAPP-ZINN, K. (1984). Anatomie des Blattes. 2. Blattanatomie der Angiospermen. B. Experimentelle und ökologische Anatomie des Angiospermenblattes I. In: *Handbuch der Pflanzenanatomie*. Gebrüder Borntraeger, Berlin, Stuttgart.
- NAPP-ZINN, K. (1985). Zur Entwicklungsgeschichte von Angiospermen. (Eine Erwiderung). *Biol. Zbl.* 104 (6): 731-733.
- NAPP-ZINN, K. (1988). Anatomie des Blattes. 2. Blattanatomie der Angiospermen. B. Experimentelle und ökologische Anatomie des Angiospermenblattes II. In: *Handbuch der Pflanzenanatomie*. Gebrüder Borntraeger, Berlin, Stuttgart.
- NELSON, T. & J. A. LANDGDALE. (1989). Patterns of Leaf Development in C4 Plants. *Plant cell* 1: 3-13.
- NOUGARÈDE, A. (1967). Experimental Cytology of the Shoot Apical Cells During Vegetative Growth and Flowering. *Int. Rev. Cytol.* 21: 202-351.
- OLBRICHT, K. (1998). Untersuchungen zur genetischen und histogenetischen Variabilität an Transgenen *Petunia hybrida* Hort. (Vilm.). Diss. A. *Humboldt-Universität zu Berlin*. Berlin. (<http://dochoost.rz.hu-berlin.de/dissertationen/agrar/olbricht-klaus/>)
- OPATRŇÝ, Z. & Z. LANDA. (1974). Regeneration of Chlorophyll Chimeras from Leaf Explants of *Nicotiana tabacum* L. *Biol. Plant. (Prague)* 16 (4): 312-315.
- PIERIK, R. L. M. (1997). In Vitro Culture of Higher Plants. *Kluwer Academic Publishers*, Dordrecht, Boston, London.
- PLASCHIL, S. (1997). Vergleichende Untersuchungen zur histogenetisch bedingten Sternmusterbildung in der Petalenfärbung bei *Camellia* L., *Myosotis* L., *Pelargonium* L'Herit. Ex Ait., *Phlox* L., *Rhododendron* L., *Saintpaulia* H. Wendl., *Verbena* L. Diss. A. *Humboldt-Universität zu Berlin*. Berlin. (<http://dochoost.rz.hu-berlin.de/dissertationen/agrar/plaschil-sylvia/>)
- POHLHEIM, F. (1969a). Über Unterschiede in der Beteiligung des „Dermatogen“ an der Mesophyllbildung bei *Buxus sempervirens argenteo-marginata* Hort. *Wiss. Z. Päd. Hochsch. Potsdam Math.-Naturw.* 13 (1): 167-176.
- POHLHEIM, F. (1969b). Untersuchungen über Chloroplastenzahlen in Schließzellen, Schließzellenlängen und Kerngrößen in Epidermiszellen bei *Laburnocytisus*-Chimären und ihren Rückschlägen. *Wiss. Z. Päd. Hochsch. Potsdam Math.-Naturw.* 13 (1): 157-165.
- POHLHEIM, F. (1971a). Untersuchungen zur Sprossvariation der *Cupressaceae* 1. Nachweis immer-spaltender Periklinalchimären. *Flora* 160: 264-293.
- POHLHEIM, F. (1971b). Untersuchungen zur Sprossvariation der *Cupressaceae* 2. Ploidiechimären an der Haploiden *Thuja gigantea 'Gracilis'* nach spontaner Diploidisierung. *Flora* 160: 294-316.

- POHLHEIM, F. (1971c). Untersuchungen zur Sprossvariation der *Cupressaceae* 3. Quantitative Auswertung des Scheckungsmusters immerspaltender Periklinalchimären. *Flora* 160: 360-372.
- POHLHEIM, F. (1977). Umlagerung an der Trichimäre *Pelargonium zonale* 'Freak of Nature' - Ein Beitrag zur Herstellung von Plastommutanten. *Wiss. Z. Päd. Hochsch. Potsdam Math.-Naturw.* 21 (1): 115-127.
- POHLHEIM, F. (1981). Genetischer Nachweis einer NMH-induzierten Plastommutation bei *Saintpaulia ionantha* H. Wendl. *Biol. Rdsch.* 19: 47-50.
- POHLHEIM, F. (1984). Vergleichende Untersuchungen über Parallelvariation durch Mutation und Chimärenumlagerung bei *Hedera helix* - Ein Beitrag zur Entstehung von Grünrand-Periklinalchimären mit unmaskiertem weißem Binnenfeld. *Arch. Züchtungsforsch.* 15 (2): 115-126.
- POHLHEIM, F. (1985). Zur Adventivsprossbildung an Blattstecklingen einer Monektochimäre (Grün-Weiß-Weiß) von *Peperomia obtusifolia*. *Biol. Zbl.* 104 (3): 261-267.
- POHLHEIM, F. & E. POHLHEIM. (1976). Herstellung von Plastommutanten bei *Saintpaulia ionantha* H. Wendl. *Biochem. Physiol. Pflanzen* 169: 377-383.
- PUSEY, J. G. (1962). *Sedum 'Aurora'* ... a Possible Chimaera. *Nat. Cact. Succ. J.* 17: S. 11-12.
- RASCH, D. (1983). Biometrie: Einführung in die Biostatistik. *VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag*, Berlin.
- RENNER, O. (1936a). Zur Kenntnis der nichtmendelnden Buntheit der Laubblätter. *Flora* 130: 218-290.
- RENNER, O. (1936b). Zur Entwicklungsgeschichte randpanaschierter und reingrüner Blätter von *Sambucus*, *Veronica*, *Pelargonium*, *Spiraea*, *Chlorophytum*. *Flora* 130: 454-466.
- RENNER, O. (1942). Über die Entstehung homozygotischer Formen aus komplexheterozygotischen *Oenotheren*. *Flora* 135: 201-239.
- RENNER, O. & M. VOß. (1942). Zur Entwicklungsgeschichte randpanaschierter Formen von *Prunus*, *Pelargonium*, *Veronica*, *Dracaena*. *Flora* 135: 356-376.
- RISCHKOW, V. I. (1936). Buntblättrige Chimären und der Ursprung des Mesophylls bei Dicotyledonen. *Genetica* 18: 313-336.
- RIVERA, D. & C. OBÂON. (1995). The Ethnopharmacology of Madeira and Porto Santo Islands, a Review. *J Ethnopharmacol* 46(2): 73-93.
- ROMEIS, B. & AL. (1989). Mikroskopische Technik. *Urban und Schwarzenberg*, München, Wien, Baltimore.
- SACHS, T. (1991). Pattern Formation in Plant Tissue. In: *Development and Cell Biology Series*. Cambridge University Press, Cambridge, New York, Port Chester, Melbourne, Sydney.

- SANTOS, R. F. & W. HANDRO. (1983). Morphological Patterns in *Petunia Hybrida* Plants Regenerated from Tissue Cultures and Differing by Their Ploidy. *Theor. Appl. Genet.* 66 (1): 50-60.
- SATINA, S. & A. F. BLAKESLEE. (1941). Periclinal Chimeras in *Datura stramonium* in Relation to Development of Leaf and Flower. *Amer. J. Bot.* 28: 862-871.
- SATINA, S., A. F. BLAKESLEE & A. G. AVERY. (1940). Demonstration of the Three Germ Layers in the Shoot Apex of *Datura* by Means of Induced Polyploidy in Periclinal Chimeras. *Amer. J. Bot.* 27: 895-905.
- SCHEIBE, A. (1951). Einführung in die Allgemeine Pflanzenzüchtung. *Verlag Eugen Ulmer*, Stuttgart, Ludwigsburg.
- SCHMALZ, H. (1989). Pflanzenzüchtung. *VEB Dt. Landw.-Verlag*, Berlin.
- SCHMÜLLING, T., H.-M. RUPP, M. FRANK & S. SCHÄFFER (1999). Recent Advances in Cytokinin Research: Receptor Candidates, Primary Responses Genes, Mutants and Transgenic Plants. In *Advances in Regulation of Plant Growth and Development*. Peres Publisher, Praha, 1999: 85-96.
- SCHMÜLLING, T. & J. SCHELL. (1993). Transgenic Tobacco Plants Regenerated from Leaf Disks Can Be Periclinal Chimeras. *Plant Mol. Biol.* 21 (4): 705.
- SCHÖTZ, F. (1954). Über Plastidenkonkurrenz bei *Oenothera*. *Planta* 43: 182-240.
- SCHWANITZ, F. (1952). Einige kritische Bemerkungen zur Methode der Bestimmung der Ploidie durch Messung der Pollen- und Spaltöffnungsgröße. *Züchter* 22: 273-275.
- SCHWARZ, W. (1927). Die Entwicklung des Blattes bei *Plectranthus fruticosus* und *Ligustrum vulgare* und die Theorie der Periklinalchimären. *Planta* 3: 499-526.
- SHIROBOKOV, V. P., A. I. EVTUSHENKO, V. F. LAPCHIK, D. N. SHIROBOKOVA & E. A. SUPTIL. (1981). Antivirussnaya Aktivnost' Nekotorykh Predstavitelej Semeystva Tolstiankovykh. *Antibiotiki* 26(12): 897-900.
- SKENE, K. G. M. & M. BARLASS. (1983). Studies on the Fragmented Shoot Apex of Grapevine 4. Separation of Phenotypes in a Periclinal Chimera in Vitro. *J. Exper. Bot.* 34 (147): 1271-1280.
- SMITH, L. G. & S. HAKE. (1992). The Initiation and Determination of Leaves. *Plant Cell*. 4: 1017-1027.
- SPENA, A. & F. SALAMINI. (1995). Genetic Tagging of Cells and Cell Layers for Studies of Plant Development. *Methods Cell Biol.* 49: 331-354.
- SPSS INC. (2000). SPSS for Windows. Vers. 10.7. *SPSS Inc.* Chicago.
- STEWART, R. N. & L. G. BURK. (1970). Independence of Tissues Derived from Apical Layers in Ontogeny of The tobacco Leaf and Ovary. *Amer. J. Bot.* 57 (8): 1010-1019.

- STEWART, R. N. & H. DERMEN. (1975). Flexibility in Ontogeny as Shown by the Contribution of the Shoot Apical Layers to Leaves of Periclinal Chimeras. *Amer. J. Bot.* 62 (9): 935-947.
- STEWART, R. N., P. SEMENIUK & H. DERMEN. (1974). Competition and Accommodation between Apical Layers and Their Derivatives in the Ontogeny of Chimeral Shoots of *Pelargonium* x *Hortorum*. *Amer. J. Bot.* 61 (1): 54-67.
- STOFFBERG, E. (1991a). Morphological and Ontogenic Studies on Southern African Podocarps. Initiation of the Seed Scale Complex and Early Development of Integument, Nucellus and Epimatium. *Botanical Journal of Linnean Society* 105: 21-35.
- STOFFBERG, E. (1991b). Morphological and Ontogenic Studies on Southern African Podocarps. Shoot Apex Morphology and Ovuliferous Cone Initiation. *Botanical Journal of Linnean Society* 105: 1-19.
- STRAUB, J. (1950). Wege zur Polyploidie. Eine Anleitung zur Herstellung von Pflanzen mit Riesenwuchs. *Gebrüder Borntraeger*, Berlin.
- SZYMKOWIAK, E. J. & I. M. SUSSEX. (1992). The Internal Meristem Layer (L3) Determines Floral Meristem Size and Carpel Number in Tomato Periclinal Chimeras. *Plant cell* 4 (9): 1089-1100.
- SZYMKOWIAK, E. J. & I. M. SUSSEX. (1996). What Chimeras can Tell us about Plant Development. *Annual review of plant physiology and plant molecular biology* 47: 351-376.
- TIAN, H.-C. & M. MARCOTRIGIANO. (1993). Origin and Development of Adventitious Shoot Meristems Initiated on Plant Chimeras. *Develop. Biol.* 155 (1): 259-269.
- TILNEY-BASSETT, R. A. E. (1963a). Genetics and Plastid Physiology in *Pelargonium*. *Heredity* 18: 485-504.
- TILNEY-BASSETT, R. A. E. (1963b). The Structure of Periclinal Chimeras. *Heredity* 18: 265-284.
- TILNEY-BASSETT, R. A. E. (1986). Plant Chimeras. *E. Arnold*, London ; Baltimore.
- TILNEY-BASSETT, R. A. E. (1989). The Diversity of the Structure and Function of Higher Plant Plastids. In: *Physiology, Biochemistry, and Genetics of Nongreen Plastids*. American Society of Plant Physiologists, Rockville.
- TING, I. P. (1985). Crassulacean Acid Metabolism. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 36: 595-622
- UTHSCSA. (1997). Image Tools. Vers. 2.0 Alpha. *UTHSCSA*. San Antonio.
- VANKOVÁ, R. (1999). Cytokinin Glycoconjugates - Distribution, Metabolism and Function. In *Advances in Regulation of Plant Growth and Development*. Peres Publisher, Praha, 1999: 67-78.
- VAVILOV, N. I. (1940). Theoretische Grundlagen Der Pflanzenzüchtung. 1. Allgemeine Pflanzenzüchtung. *Forschungsdienst, Reicharbeitsgemeinschaften der Landbauwissenschaft*, Berlin.

- VENVERLOO, C. J. (1983). The Formation of Adventitious Organs. IV. The Ontogeny of Shoot and Leaves from Epidermis Cells of *Nautilocalyx lynchii*. *Z. Pflanzenphysiol.* 109: 55-67.
- VILLEGAS, L. F., I. D. FERNÁNDEZ, H. MALDONADO, R. TORRES, A. ZAVALETA, A. J. VAISBERG & G. B. HAMMOND. (1997). Evaluation of the Wound-Healing Activity of Selected Traditional Medicinal Plants from Peru. *J Ethnopharmacol* 55 (3): 193-200.
- WARDLAW, C. W. (1965). The Organization of the Shoot Apex. *Springer*, Berlin ; New York.
- WILLIAMS, R. F. (1974). The Shoot Apex and Leaf Growth: A Study in Quantitative Biology. *Cambridge University Press*, London ; New York.
- WILSON, M. K. P. & D. K. BRUCK (1999). Lack of Influence of the Epidermis on Underlying Cell Development in Leaflets of *Pisum sativum* var. *argenteum* (Fabaceae). *Ann. Bot.* 83: 1-10
- WINKLER, H. (1935). Chimären und Burdonen. Die Lösung des Pfropfbastardproblems. *Biologie* 4 (9): 279-290.
- YARBROUGH, J. A. (1936). Regeneration in the Foliage Leaf of *Sedum*. *Amer. J. Bot.* 23: 303-307.
- ZONNEVELD, B. J. M. & F. VAN IREN. (2000). Flow Cytometric Analysis of DNA Content in *Hosta* Reveals Ploidy Chimeras. *Euphytica* 111(2): 105-110.

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass die vorliegende Arbeit von mir und nur mit Hilfe der angegebenen Hilfsmittel angefertigt wurde.

Weiterhin erkläre ich, bisher weder die gleiche noch eine andere Dissertation an einer anderen Universität oder Hochschule eingereicht zu haben.

Berlin, am 12.06.2002

Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle bei all denen bedanken, die meine Arbeit an dieser Dissertation ermöglicht oder befördert haben. Besonders danke ich Herrn Prof. Dr. F. POHLHEIM für die vielseitigen Hinweise und wertvollen Anregungen im Verlaufe der Untersuchungen und für die Betreuung der Arbeit.

Besonderer Dank gilt Frau Dr. S. Plaschil für die fachliche Unterstützung und die kritische Durchsicht des Manuskripts. Dr. M. Knuth, Dr. K. Olbricht, Frau Dr. C. Lehmann, Frau A. Zindl, Frau G. Baumert, Frau P. Binting, Frau S. Meier, Frau B. Rentsch, Frau S. Wieland, P. Grieger, M. J. Hansen, M. Li, S. Petrova, A. Hanemann und E. Luchmann danke ich für die vielen anregenden Gespräche und die angenehme Zusammenarbeit im Fachgebiet.

Bei der FAZIT-STIFTUNG bedanke ich mich recht herzlich für die Gewährung eines zweijährigen Promotionsstipendiums und die Finanzierung der Fertigstellung der Dissertationsschrift.

Ein ganz besonderer Dank gilt meinem Onkel Antonin Quenum, meinen Eltern und Geschwistern, die mich seit jeher in allen Dingen unterstützt und bestärkt haben.

Abschließend möchte ich mich bei allen Kollegen und Freunden bedanken, die hier nicht namentlich erwähnt werden können, ohne die jedoch die Arbeit nicht zustande gekommen wäre.